

ANNALES

DE L'INSTITUT PASTEUR

QR
1
A475
V. 44
1930

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX

COMITÉ DE RÉDACTION

D^r **CALMETTE**, sous-directeur de l'Institut Pasteur ;
D^r **L. MARTIN**, sous-directeur de l'Institut Pasteur ;
D^r **ROUX**, directeur de l'Institut Pasteur ;
D^r **VAILLARD**, membre de l'Académie de Médecine.

TOME QUARANTE-QUATRIÈME

Janvier-Juin 1930

AVEC TROIS PLANCHES

PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADEMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6^e).

ANNALES
DE LA
SOCIETE
PROTECTORALE
DE LA
FRANCE

PARIS

PARIS. — IMPRIMERIE A. MARETHEUX ET L. PACTAT, 4, RUE CASSETTE. — 1930.

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

**SUR LA VACCINATION PRÉVENTIVE
DE LA TUBERCULOSE PAR LE BCG,
SON INNOCUITÉ ET SES EFFETS SUR LA RÉDUCTION
DE LA MORTALITÉ GÉNÉRALE INFANTILE**

par A. CALMETTE.

Le mémoire récemment publié par J. Cantacuzène, M. Ciuca, M. Nasta, T. Veber et J. Alexa dans les *Archives roumaines de Pathologie expérimentale et de Microbiologie* (1), sous le titre : *Trois années de vaccinations antituberculeuses en Roumanie par le BCG (1926-1929)*, nous a déterminé à réunir de nouveaux éléments d'information qu'ont bien voulu nous adresser un grand nombre de confrères praticiens, d'Inspecteurs départementaux ou de directeurs de bureaux d'hygiène. Ces documents sont de nature à fixer l'opinion des médecins, ainsi que celle du public, sur la complète innocuité et sur la valeur prémunisante de la vaccination par le BCG. Nous allons essayer de les résumer.

(1) Septembre 1929, 2, n^o 2-3, Masson, éditeur, Paris.

* * *

A la date du 1^{er} janvier 1930, le nombre des vaccinations qui avaient été déjà faites avec le BCG en France, depuis le 1^{er} juillet 1924, dépassait 210.000. Toutes les œuvres antituberculeuses et plusieurs Inspections départementales d'hygiène, par exemple celles de la Seine-Inférieure, de l'Hérault, de Meurthe-et-Moselle, etc., ont institué elles-mêmes les vaccinations et leur contrôle. Dans tous les départements, beaucoup de médecins et de sages-femmes ont fait confiance à la méthode et l'ont employée de plus en plus, si bien que l'Institut Pasteur a dû créer un important laboratoire pour la préparation du vaccin et improviser tout un service d'expéditions et de renseignements. Actuellement il envoie chaque jour de quoi vacciner une moyenne de 300 nouveau-nés. Toutes ces expéditions sont faites gratuitement et il est répondu à chaque demande par retour du courrier puisque, le vaccin devant être utilisé dans les dix jours qui suivent sa préparation, et dans les dix jours qui suivent la naissance de l'enfant, il est impossible d'en constituer des réserves d'avance.

Des travaux expérimentaux et cliniques — déjà au nombre de plus de deux mille — qui ont été publiés dans les divers pays sur le BCG, se dégagent la démonstration évidente de l'innocuité de ce vaccin pour toutes les espèces animales sensibles à la tuberculose, et aussi celle de l'inutilité des efforts qui ont été tentés par les microbiologistes les plus ingénieux pour lui restituer, même partiellement, la virulence qu'il a perdue.

Le scepticisme avec lequel fut d'abord accueillie notre affirmation que le BCG, tout en conservant intactes ses propriétés antigéniques, constituait une race de bacilles définitivement et héréditairement atténuée, incapable de créer, dans les organismes sensibles, des lésions tuberculeuses évolutives et réinoculables, ne paraît plus subsister dans l'esprit d'aucun expérimentateur. Les rares publications dans lesquelles leurs auteurs avaient cru pouvoir soutenir que le BCG était pathogène pour le cobaye, ou qu'il renfermait, à côté d'une souche avirulente, quelques éléments virulents, étaient manifestement basées sur des expériences défectueuses, aujourd'hui réleguées dans

l'oubli. Mais il est naturel que chaque microbiologiste responsable de la préparation et de la distribution du BCG dans son pays veuille s'assurer par lui-même qu'il ne risque en aucun cas de produire quelque accident, et c'est ce qui explique que, dans un si grand nombre de laboratoires, les mêmes expériences soient répétées et multipliées à l'infini, jusqu'à ce que ne puisse plus subsister l'ombre d'une inquiétude.

Nous désirons seulement rappeler ici que deux sortes de preuves sont particulièrement convaincantes de l'innocuité du BCG.

La première est de l'ordre de ce que les philosophes romains qualifiaient de *Consensus omnium*. Elle résulte de ce fait que, tant en France que dans presque tous les pays du monde, des centaines de milliers d'enfants ont été, au cours des cinq dernières années, soumis à cette vaccination sans que, nulle part, on ait pu faire la démonstration qu'un accident, survenu après l'ingestion du vaccin, soit imputable à celui-ci. Et alors même que de tels accidents se fussent exceptionnellement produits, comme le croient encore, en France seulement, quelques rares médecins, n'en observe-t-on pas de plus fréquents et de plus graves avec toutes les autres vaccinations (antivariolique, antityphique, antidiphétique, etc.)? Personne n'estimera qu'il serait sensé d'en tirer argument pour prononcer la condamnation du BCG.

En fait, aucune méthode de vaccination contre une maladie infectieuse ne s'est révélée jusqu'ici plus inoffensive.

La seconde sorte de preuves nous est fournie par les autopsies d'enfants qui, ayant été vaccinés avec le BCG dans les dix jours suivant leur naissance, ont succombé dans la suite à des maladies quelconques, étrangères à la tuberculose.

De telles autopsies ont été pratiquées en nombre assez considérable en divers pays, et elles ont été complétées le plus souvent par de rigoureux contrôles de laboratoire. Telles sont les 56 autopsies qu'ont publiées Zeyland et Piazecka-Zeyland à Poznan, qui leur ont permis d'isoler, des ganglions mésentériques de trois enfants différents, des cultures pures de BCG qui, malgré le long temps de séjour de ce dernier dans l'organisme humain, étaient demeurées parfaitement avirulentes. D'autres encore, aussi bien étudiées, sont dues à Iakhnis, de Kharkoff (50 autopsies), à William Park, de New-York

(6 autopsies), à Ciucu, Franke, Witner-Rosenthal, Nasta et T. Veber, Manicatide et J. Nicolau (22 autopsies). En France, un petit nombre seulement ont pu être faites par Léon Bernard (7 autopsies dont 3 d'enfants sans contact), par nous-même, par Weill-Hallé, Robert Debré, Lesné, Turpin, Le Lorier, etc. Tout récemment, grâce à l'obligeance du Dr Dujol, accoucheur de la Maternité de Saint-Étienne (Loire), nous avons reçu les protocoles complets de 11 autopsies pratiquées par le Dr Beutter, avec examens histologiques très minutieusement effectués par le Dr Devuns. Il s'agissait d'enfants ayant succombé à diverses infections, de un mois à un an après qu'ils avaient été vaccinés.

Or, dans aucune de ces autopsies, bien qu'il ait été parfois possible de retrouver des bacilles acido-résistants dans les ganglions lymphatiques, il n'existait de lésions tuberculeuses, et la réinoculation de ces ganglions au cobaye n'a jamais donné lieu à un processus tuberculigène quelconque. Ces réinoculations sont restées constamment négatives, attestant ainsi la stabilité des caractères essentiels des bacilles BCG qu'ils hébergeaient depuis longtemps.

Il semble donc bien que, tant au point de vue expérimental que clinique, on doive considérer comme démontrées la non-virulence et l'innocuité complète du BCG.

Nous devons maintenant nous demander si son efficacité préventive de l'infection tuberculeuse est aussi indiscutable, et dans quelle mesure elle paraît actuellement s'exercer.

De tous côtés on a publié des statistiques qui tendent à l'établir. Les nôtres, que nous avions pourtant basées sur une comparaison aussi précise que possible de la mortalité par tuberculose chez les enfants vaccinés et chez les enfants non vaccinés de familles où la contagion était permanente, ont été violemment critiquées en Angleterre par Major Greenwood, et en Autriche par Rosenfeld et Götzl. Ces statisticiens-experts nous reprochaient de ne pas tenir un compte suffisant des méthodes de calcul des « tables de vie ». Nos collègues Cantacuzène en Roumanie, Heynsius van den Berg à Amsterdam, William Park et Kéreszturi à New-York, ont éludé ce reproche et pourtant leurs résultats sont encore plus satisfaisants que les nôtres. Par conséquent notre erreur, si erreur il y a, n'est pas tellement condamnable !

Mais, pour ne plus nous exposer à voir discuter nos chiffres, ni à voir contester les diagnostics, à la vérité souvent fantaisistes, fournis par certains dispensaires, nous avons résolu de ne tenir désormais aucun compte des causes de décès, et de prier nos correspondants de vouloir bien n'établir leurs comparaisons entre les enfants vaccinés et les non vaccinés qu'en se basant exclusivement sur la *mortalité générale*, c'est-à-dire sur la mortalité par toutes causes.

Cette mortalité générale n'est susceptible d'aucune interprétation fallacieuse, d'aucun « truquage ». Il est donc possible et facile de se rendre compte, dans les localités ou dans les groupements où la vaccination BCG est largement employée, si les enfants *vaccinés* meurent moins que les *non vaccinés* aux mêmes âges. Et comme les statistiques officielles de mortalité, transmises par les mairies aux préfectures, portent séparément sur les enfants de *zéro à un an*, et sur ceux de *un an à quatre ans*, et qu'elles comprennent à la fois les vaccinés et les non-vaccinés, entre lesquels l'Administration ne fait aucune différence, on ne court aucun risque de se tromper en comptant à part, à titre de comparaison, les décès d'enfants vaccinés.

Comme il nous était matériellement impossible d'obtenir de toutes les organisations antituberculeuses, de tous les médecins et de toutes les sages-femmes qui ont employé le BCG depuis 1924, de nous envoyer des nouvelles de la santé de chacun des enfants vaccinés par leurs soins, nous avons résolu de faire des sondages dans quelques départements où il existe des inspections d'hygiène fonctionnant depuis assez longtemps. Nous avons écrit, en outre, dans chaque département, aux médecins qui, d'après les fiches qu'ils nous retournent régulièrement, ont une expérience déjà ancienne du BCG.

Nous avons reçu 245 réponses, de 75 départements différents. Beaucoup d'entre elles indiquent que les enfants vaccinés se montrent en général plus résistants que les non-vaccinés aux maladies du jeune âge et que leur mortalité est moindre.

Cette différence dans la mortalité générale entre les vaccinés et les non-vaccinés ressort avec évidence des chiffres que nous ont fournis les services publics d'hygiène des départements dans lesquels on a pu faire, au cours des derniers mois de 1929, le recensement et la revision de presque tous les enfants vac-

cinés, c'est-à-dire dans l'Aisne, le Cher, l'Hérault, le Pas-de-Calais et, en outre, dans l'arrondissement de Thann (Haut-Rhin), ainsi que dans quelques localités où, depuis plusieurs années déjà, la pratique de la vaccination par le BCG est étendue à la plupart des nouveau-nés. Dans le département de l'Aisne, en 1927 et 1928, sur un total de 21.072 naissances, 1.467 enfants ont été vaccinés. Or, pendant ces deux années, la mortalité générale de zéro à un an, pour l'ensemble des enfants vaccinés et non vaccinés, a été de 8,5 p. 100 (mort-nés non compris), et la mortalité générale de zéro à un an pour les vaccinés seuls n'a été que de 4,6 p. 100, c'est-à-dire presque moitié moindre que celle des vaccinés et non-vaccinés réunis.

Dans le département du *Cher*, la proportion des vaccinés par rapport aux naissances a été de 2,3 p. 100 en 1927, et de 27,4 p. 100 en 1928. La mortalité générale des vaccinés (au nombre de 1.584), de zéro à un an, n'a été, en 1928, que de 2,9 p. 100, alors que celle de l'ensemble des vaccinés et des non-vaccinés (4.400 naissances) était de 6,8 p. 100, ce qui est un des chiffres les plus bas observés en France.

Dans le département de l'*Hérault* la proportion des vaccinés par rapport aux naissances n'a cessé de progresser depuis 1925. Elle a été successivement de 0,14 p. 100 en 1925, 2,42 en 1926, 9,98 en 1927 et 13,21 en 1928. Pour ces quatre années, la mortalité générale des vaccinés (1.923 au total) a été, de zéro à un an, de 5,92 p. 100, alors que, pour l'ensemble de la population infantile (vaccinés et non-vaccinés de zéro à un an), elle était de 8,64 p. 100.

Dans le *Pas-de-Calais*, où la mortalité infantile est toujours élevée, celle des vaccinés de zéro à un an a été, en 1928, de 7,5 p. 100, alors que celle des non-vaccinés et vaccinés était de 11,3 p. 100. La proportion des vaccinés par rapport aux naissances a été, en 1928, de 9,6 p. 100.

Dans ce même département, deux grandes compagnies minières, celle des mines de Béthune et celle des mines de Liévin, poursuivent depuis 1927 une expérience extrêmement intéressante de vaccination de la presque totalité des enfants nés sur le territoire de leurs concessions. Pour la Compagnie des Mines de Béthune il a même été possible, en 1928, de vacciner tous les nouveau-nés, soit 823, dont 726 nés en milieu

apparemment sain et 97 en milieu contaminé ou suspect (30 sont nés de mères tuberculeuses). La mortalité générale de zéro à un an a été de 5,3 p. 100, chiffre très inférieur à celui de l'ensemble du département (11,3 p. 100).

A la Compagnie des Mines de Liévin, c'est la Société de Secours mutuels des employés et ouvriers qui se préoccupe elle-même d'imposer la vaccination dans les familles de ses membres. En 1928, le nombre des naissances a été de 780. 585 enfants ont été vaccinés; 195 ne l'ont pas été. Or, la mortalité totale pour l'ensemble des 780 enfants de zéro à un an a été de 7,4 p. 100. Il s'était produit 58 décès, dont 27 parmi les 195 non-vaccinés, soit 13,8 p. 100 et 31 parmi les 585 vaccinés, soit 5,3 p. 100 seulement, c'est-à-dire plus de moitié moins que chez les non-vaccinés.

Pour l'arrondissement de Thann (Haut-Rhin) le Dr Kern, inspecteur d'hygiène, écrit :

« Nous avons vacciné jusqu'à présent (8 décembre 1929) 1.450 nouveau-nés, c'est-à-dire 80 p. 100 environ des naissances de l'arrondissement. Il est très rare que les familles refusent la vaccination, quel que soit leur milieu social. Nous avons l'impression très nette que la morbidité des vaccinés est beaucoup moins élevée que celle des non-vaccinés. D'autre part, nous avons remarqué que les vaccinés se développent mieux. Il arrive souvent que les parents attirent notre attention sur ce fait.

« Quant à la mortalité, il est certain qu'elle est, en ce qui concerne notre région, pour la même période de temps, réduite au tiers environ de celle des enfants non vaccinés (2,67 contre 6,62 p. 100). Nous avons commencé à vacciner en 1926. En 1928, sur 302 naissances, 224 enfants ont été vaccinés, soit 74 p. 100 des nouveau-nés. Il y a eu 20 morts par toutes causes (soit 6,62 p. 100) dont 5 seulement chez les vaccinés (2,02 p. 100). 20 enfants vaccinés vivent en milieu tuberculeux et tous sont bien portants. »

Dans les régions les plus diverses de la France, on s'est appliqué, en certaines localités, urbaines ou rurales, à généraliser la vaccination BCG à tous ou presque tous les nouveau-nés. Partout les résultats ont été les mêmes.

Ainsi à Ligny-en-Barrois (Meuse), depuis le 9 juillet 1926

jusqu'au 1^{er} octobre 1929, sur 360 naissances, 324 enfants ont été vaccinés et 36 ne l'ont pas été. La mortalité générale des 324 vaccinés (21 décès) est de 6,4 p. 100. Celle des non-vaccinés (9 décès pour 36 non-vaccinés) est de 25 p. 100.

A Blainville et à Damelevières (Meurthe-et-Moselle), sur 187 naissances, 186 enfants ont été vaccinés. Il s'est produit en tout 4 décès (dont aucun par tuberculose), soit 4,8 p. 100. En 1926, avant la vaccination, la mortalité générale de zéro à un an avait été de 10 p. 100.

A Salin-de-Giraud, localité industrielle des Bouches-du-Rhône, 78 p. 100 des enfants nés depuis 1926 ont été vaccinés. La mortalité infantile de zéro à un an était de 8 p. 100 avant la vaccination. Elle est tombée à 5,7 p. 100 après celle-ci, et la mortalité par tuberculose est nulle.

A Abbeville, la mortalité générale de zéro à un an était de 8,1 p. 100 en 1928. Pour les 75 enfants vaccinés par le dispensaire d'hygiène sociale, elle n'a été que de 1,3 p. 100.

Beaucoup d'autres faits qui démontrent les mêmes écarts de mortalité générale entre les vaccinés et les non-vaccinés se trouvent rapportés dans les 245 réponses qui ont été faites à notre enquête récente. Mais aucun, croyons-nous, n'offre plus d'intérêt et de précision que l'expérience suivante de vaccination préventive, entreprise et poursuivie depuis mars 1927 à Brest, avec un exceptionnel dévouement, par M^{me} la comtesse Guy de Carbonnières, assistante sociale du Service des Tuberculeux de l'Hôpital maritime.

Cette expérience, contrôlée dans tous ses détails par le Dr J. Quérangal des Essarts, chef du laboratoire de bactériologie de l'Hôpital maritime de Brest, et par son prédécesseur le Dr Le Chuiton, offre cette particularité qu'elle a pu être effectuée dans des familles de marins ou d'ouvriers de l'arsenal dont tous les membres étaient connus, et qu'il fut ainsi possible de comparer très exactement la mortalité aux mêmes âges des enfants non vaccinés et vaccinés élevés dans les mêmes conditions, exposés sensiblement aux mêmes contagions. Tous les enfants vaccinés l'ont été par M^{me} G. de Carbonnières elle-même, qui les revoit périodiquement.

De mars à décembre 1927, 25 enfants avaient été vaccinés dans 25 familles différentes. Tous ont actuellement plus de

deux ans. On a pu comparer leur mortalité par toutes causes avec celle qui s'était produite antérieurement de zéro à deux ans parmi les autres membres de ces mêmes 25 familles, qui avaient eu ensemble 95 enfants. Voici le résultat de cette comparaison :

Sur les 25 *vaccinés*, il ne s'était produit, au 30 novembre 1929, aucun décès.

Sur les 70 *non-vaccinés*, il s'était produit antérieurement, entre les âges de zéro à deux ans (non compris les mort-nés), 10 décès, soit 14,28 p. 100.

Pendant toute l'année 1928, de janvier à décembre, 35 enfants ont été vaccinés dans 35 familles différentes. Tous ont actuellement plus d'un an.

La comparaison de leur mortalité par toutes causes avec celle qui s'était produite antérieurement de zéro à un an parmi les autres membres de ces mêmes 35 familles, qui avaient eu ensemble 104 enfants, a fourni les chiffres suivants :

Sur les 35 *vaccinés* en 1928 il s'était produit, jusqu'au 30 novembre 1929, 2 décès (dont un à trois semaines, de débilité congénitale, chez un prématuré placé dans des conditions hygiéniques très mauvaises, et un à sept mois, de bronchopneumonie suite de rougeole), soit 5,7 p. 100.

Sur les 69 *non-vaccinés* de ces mêmes familles (mort-nés non compris), 9 enfants avaient antérieurement succombé de zéro à un an à diverses maladies, soit 13 p. 100.

Et si l'on compare, pour l'ensemble des deux années (1927 et 1928 pour les vaccinés), la mortalité de zéro à un an seulement dans les deux groupes de *vaccinés* et de *non-vaccinés* des mêmes familles, on trouve que les 60 *enfants vaccinés* ont fourni, entre zéro et un an, 2 décès par toutes causes, soit 3,35 p. 100, alors que, pour les 139 *non-vaccinés*, on a compté 16 décès survenus de zéro à un an, soit 11,31 p. 100. Dans 5 familles seulement l'enfant vacciné et les non-vaccinés n'étaient pas de la même mère.

La différence de mortalité totale entre 3,35 et 11,31, soit 7,96 p. 100, indique, aussi exactement qu'il est possible, pour le milieu et dans les conditions dont il s'agit, le gain de vies humaines dû à la vaccination BCG.

On ne saurait donc être surpris qu'à Brest, où ces résultats

commencent à être connus et où les taux de mortalité tuberculeuse sont très élevés, les familles réclament elles-mêmes le vaccin et que, récemment, deux médecins de la ville aient tenu à ce que leurs enfants soient vaccinés.

En portant à notre connaissance l'œuvre ainsi accomplie par M^{me} G. de Carbonnières, par le D^r Le Chuiton et par lui-même, le D^r Quérangal des Essarts ajoute qu'en 1929, 40 autres enfants ont été vaccinés dans 40 familles différentes, et qu'en mars de cette même année il a commencé à vacciner par voie sous-cutanée quelques enfants de divers âges (de 24 jours à treize ans) non réagissants à la tuberculine. Jusqu'à présent, sur 86 enfants qui lui ont été amenés en vue de l'épreuve tuberculinique, 12 seulement n'ont pas réagi et ont pu être vaccinés. Les 74 autres présentaient une réaction positive. Les 12 vaccinés sont en parfaite santé et se développent normalement.

Cette expérience de vaccination par injection sous-cutanée de BCG aux sujets de divers âges qui n'ont pas été vaccinés par voie buccale à leur naissance et qui ne réagissent pas à la tuberculine, — ce qui indique qu'ils ne sont probablement pas encore bacillisés, — se poursuit depuis trois ans et s'étend progressivement en divers pays. En France elle fut entreprise dès 1926 par Weill-Hallé, puis à Nancy par J. Parisot, par Louis Guinard, de Bligny, par notre collègue Léon Bernard au dispensaire Léon-Bourgeois, par les médecins coloniaux sur les recrues des troupes sénégalaises appelées à servir dans la métropole. Mais elle est surtout effectuée sur une large échelle en Norvège par O. Scheel qui, dans un travail que publient précisément ces *Annales de l'Institut Pasteur*, annonce de très encourageants résultats. Nous en reparlerons plus tard. Actuellement ce n'est que de la première vaccination, par voie buccale, des nouveau-nés, que nous croyons être en mesure de juger les résultats. Sur ce sujet, voici donc ce qu'il nous paraît possible de conclure.

* * *

Après les multiples travaux qui ont été publiés dans le monde entier sur le BCG, et après les constatations qui ont été faites à peu près partout, relativement à la réduction très

importante de la mortalité générale infantile qu'entraîne la vaccination et qu'il est impossible d'attribuer à une autre cause, on peut admettre comme démontrées l'innocuité et l'efficacité préventive du vaccin BCG contre l'infection tuberculeuse du jeune âge.

L'expérience actuellement en cours en divers pays nous fixera sur la durée de l'immunité conférée par la première vaccination faite aussitôt que possible après la naissance de l'enfant, qu'on aura pris soin d'isoler pendant un mois des contacts bacillifères, et sur la nécessité de renouveler une ou plusieurs fois la vaccination, par voie sous-cutanée, aux divers âges, afin d'assurer aux sujets une prémunition qui les mette pendant toute leur existence à l'abri des contaminations accidentielles.

En attendant que puissent être définies les conditions dans lesquelles ces revaccinations périodiques devront être effectuées, on peut estimer qu'il y a lieu de répandre aussi largement que possible l'emploi du BCG par voie buccale pour la vaccination des nouveau-nés, aussi bien dans les familles apparemment saines que dans celles où la contagion tuberculeuse est inévitable.

L'expérience roumaine, que notre collègue J. Cantacuzène a rapportée récemment, avait démontré que le vaccin BCG réduit de moitié, souvent même des deux tiers, la mortalité générale infantile. La même démonstration résulte des faits que nous venons d'exposer.

SUR LA SENSIBILITÉ CUTANÉE A LA TUBERCULINE CHEZ LE NOURRISSON AYANT INGÉRÉ LE VACCIN BCG

par MM. ROBERT DEBRÉ et E. COFIÑO.

L'étude de la sensibilité à la tuberculine chez les nourrissons vaccinés contre la tuberculose suivant la méthode de M. Calmette présente un grand intérêt, car à cette question sont liés plusieurs problèmes: celui de l'allergie tuberculinique provoquée par l'ingestion de BCG; celui des rapports entre cette allergie et l'immunité; de la vitesse avec laquelle s'établit l'immunité conférée par le BCG; du moment où cette immunité diminue et éventuellement disparaît. Enfin cette étude touche à la question primordiale et plus simple de l'absorption même du vaccin ingéré par le nouveau-né.

Nous avons signalé, dans deux notes à la Société de Biologie (1), les résultats de notre étude sur ce sujet, qui sont favorables à l'absorption, par le nouveau-né, du BCG introduit par voie buccale. Il nous paraît utile d'apporter ici le détail de nos observations et de nos conclusions.

Nous ne rappellerons pas les expériences poursuivies chez l'animal, mais simplement les études faites chez l'homme par les divers auteurs qui ont cherché à apprécier la sensibilité tuberculinique de la peau chez les enfants vaccinés. MM. Weill-Hallé et Turpin ont rapporté plusieurs statistiques sur ce sujet. Nous ne résumerons que la dernière, publiée en avril 1929, dans un mémoire de la *Revue de la Tuberculose*. Cette statistique porte sur deux catégories d'enfants: d'une part les enfants, nés de parents tuberculeux, et qui sont toujours restés en contact avec eux; d'autre part les enfants nés de parents sains, et vivant dans un milieu apparemment indemne de tuberculose. Dans ces deux catégories d'enfants, la sensibilité tuberculinique a été appréciée uniquement à l'aide de la cuti-réac-

(1) Robert DEBRÉ et E. COFIÑO, Sur la sensibilité cutanée chez le nourrisson ayant ingéré du vaccin BCG. *C. R. de la Société de Biologie*, 102, n° 30, 1929, p. 513 et 516.

tion. MM. Weill-Hallé et Turpin ont écarté l'emploi de l'intradermo-réaction dans la crainte de voir se produire des accidents chez les enfants vaccinés au BCG. La cuti-réaction fut pratiquée environ tous les trois mois chez chaque enfant. Chez les enfants nés de parents sains et vivant dans un milieu apparemment indemne de tuberculose, le pourcentage des réactions positives est de 4,5 p. 100 à trois mois, de 5,1 p. 100 à six mois, de 10,8 p. 100 à neuf mois, de 14,2 p. 100 à un an. Ce pourcentage augmente d'une façon progressive pour atteindre son maximum vers trois ans et demi (26,6 p. 100). Chez les enfants nés de parents tuberculeux et exposés à la contagion, le pourcentage des réactions positives est plus élevé : de 14,7 p. 100 à trois mois, il atteint progressivement 66 p. 100 à deux ans et demi.

Des pourcentages analogues ont été obtenus par M. Calmette, MM. Parisot et Saleur, M. Buschmann et M. Iahknis.

A côté de ces statistiques, nous rapporterons celles qui ont eu pour but essentiel d'interpréter la nature des réactions observées chez les enfants vaccinés. MM. Nobécourt et Kaplan rapportent l'observation de 25 enfants, vaccinés par ingestion de BCG, et chez lesquels ils ont recherché la sensibilité tuberculinique au moyen de la cuti-réaction. Cette épreuve fut pratiquée quelquefois à deux ou trois reprises pendant le séjour de l'enfant à l'hôpital. Parfois il n'a pu être pratiqué qu'une seule cuti-réaction. L'âge des enfants variait entre un mois et onze mois. La cuti-réaction a donné les résultats suivants :

12 enfants ont eu une cuti-réaction négative soit 48 p. 100.

13 enfants ont eu une cuti-réaction positive, soit 52 p. 100.

Les 12 enfants dont la cuti-réaction fut négative ne présentaient, ni cliniquement ni radiologiquement, aucun signe pouvant faire penser à une lésion tuberculeuse. Des 13 enfants dont la cuti-réaction fut positive, 11 n'avaient subi aucun contact tuberculeux connu, les 2 autres avaient vécu un temps variable avec des parents tuberculeux. Or, chez 10 enfants sur 13, la clinique et la radiologie décelaient l'existence d'une adénopathie trachéo-bronchique; un enfant présentait, en outre, un *spina ventosa*. M. Nobécourt pense que la cuti-réaction positive, dans les conditions où il a observé, est souvent due à l'infection ultérieure par des bacilles de Koch.

MM. Henri Lemaire, Villemin, M^{me} Dreyfus et Imbert ont pu étudier la sensibilité tuberculinique de 53 nourrissons vaccinés au BCG. Cette recherche fut poursuivie à l'aide de la cuti-réaction. De ces enfants, 2 seulement furent isolés de leurs parents tuberculeux pendant quarante jours; les autres ne le furent que pendant onze à treize jours. Chez 18 enfants, la cuti-réaction donna toujours des résultats négatifs. Ces enfants, sauf 2, vivaient dans un milieu apparemment indemne de tuberculose. Ils ne présentaient ni cliniquement, ni radiologiquement, de signe pouvant faire penser à la tuberculose. Chez 17 enfants la cuti-réaction fut très forte, en cocarde. Ces enfants ont vécu, sauf un, dans un milieu contaminé par le bacille de Koch. Tous présentaient des signes cliniques ou radiologiques de tuberculose (adénopathie trachéo-brochique ou spléno-pneumonie tuberculeuse). Chez 18 enfants la cuti-réaction fut faible, linéaire, et parfois éphémère. La proportion de ces enfants vivant dans un milieu tuberculeux ou dans un milieu apparemment sain est la même. Pour M. Henri Lemaire, qui partage, d'une façon générale, l'opinion de M. Nobécourt, la cuti-réaction forte est surtout le témoin d'une infection ultérieure par des bacilles virulents, tandis que la cuti-réaction faible s'observe très fréquemment chez les enfants vaccinés et non contaminés.

Dans l'ensemble, les différentes études que nous venons de résumer furent poursuivies dans des conditions difficiles, qui ont empêché les auteurs d'apporter des conclusions formelles, d'une part à cause du milieu où ont vécu les enfants examinés, d'autre part à cause de la technique qui a dû être employée pour déceler la sensibilité tuberculinique. En effet, la séparation des enfants du milieu tuberculeux n'a pu être réalisée; ou bien elle a été nulle, l'enfant est resté depuis sa naissance en contact avec ses parents tuberculeux; ou bien la séparation a été insuffisante, réduite le plus souvent à la durée du séjour de la mère à la Maternité, c'est-à-dire qu'elle a pris fin au bout de quinze à vingt et un jours. Tout au plus cette séparation a-t-elle été maintenue pendant quarante jours, délai considéré comme suffisant pour l'imprégnation de l'organisme par les bacilles-vaccins. Quoi qu'il en soit, après ce délai, l'enfant a vécu dans un milieu infecté par le bacille de Koch. Dans les cas les plus

favorables l'enfant, qui est né de parents sains, a vécu dans un milieu apparemment indemne de tuberculose, mais cependant l'on ne peut écarter l'éventualité d'une contamination occulte. Dès lors la constatation d'une cuti-réaction positive sera délicate à interpréter, puisque l'on ne saurait en aucun cas avoir la certitude que seule la vaccination par le BCG est intervenue pour déterminer son apparition.

D'autre part, la recherche de la sensibilité à la tuberculine n'a guère pu être poursuivie qu'à l'aide de la cuti-réaction. Or, comme M. Calmette l'a rappelé récemment, la cuti-réaction est moins sensible et moins fidèle que l'intradermo-réaction pour déceler la sensibilité à la tuberculine chez les enfants vaccinés avec le BCG. Enfin, assez souvent l'on n'a pu pratiquer qu'une seule cuti-réaction, plus rarement deux ou trois. Parfois, comme dans les recherches de MM. Weill-Hallé et Turpin, la cuti-réaction a été faite en séries, mais à des intervalles de trois mois entre chaque épreuve; il est alors impossible d'affirmer, nous le montrerons plus loin, que le sujet n'a pu présenter, à un moment donné, une cuti-réaction passagèrement positive.

Dans une étude poursuivie par l'un de nous avec le professeur Léon Bernard et Marcel Lelong (1), les conditions d'observation étaient meilleures, car la séparation avait été absolue dès la naissance; l'enfant vacciné avait été placé ensuite dans un centre d'élevage où la contamination tuberculeuse ne pouvait pas s'exercer. Chez chacun de ces enfants, qui restèrent longtemps sous notre contrôle, nous avons pu pratiquer 7, 8 et même 10 cuti-réactions. Chez plusieurs enfants les réactions ont été répétées tous les mois, et certains de nos enfants ont été observés, à cet égard, jusqu'à l'âge de deux ans. Sur 105 enfants étudiés par nous, 55 ont conservé constamment une cuti-réaction négative; 50 ont présenté à un moment donné, et au moins une fois, une cuti-réaction positive. Le pourcentage des réactions positives que nous avons obtenu est donc supérieur à celui qui avait été signalé par nos prédecesseurs. Or, chez les enfants que nous observions, la certitude étant absolue qu'aucune contamination n'était intervenue, nous

(1) Léon BERNARD, Robert DEBRÉ et LELONG, La cuti-réaction tuberculinique chez les enfants vaccinés par le BCG. *Bulletin de l'Académie de Médecine*, 23 octobre 1928.

pouvions affirmer que la cuti-réaction positive était due uniquement à la vaccination. Dès ce moment nous pensions que l'emploi de l'intradermo-réaction, qui est une méthode plus sensible que la cuti-réaction, devait améliorer encore notre pourcentage de réactions positives chez les enfants vaccinés par le BCG.

* * *

La présente série de recherches est venue confirmer cette idée. Voici les conditions, pour ainsi dire expérimentales, où elle a été réalisée — la chance que nous avons de pouvoir travailler dans de pareilles conditions fait tout le mérite et toute la valeur de notre étude — : les enfants ont été séparés dès la naissance, grâce à l'organisation inspirée et réalisée par le professeur Couvelaire à la Clinique Baudelocque. La séparation y est rigoureuse : l'enfant est éloigné de sa mère, si celle-ci est tuberculeuse, dès l'accouchement. Les visites de parents tuberculeux, ou simplement suspects, sont interdites. La vaccination de l'enfant est pratiquée à la Clinique même, dans les dix premiers jours de la vie. De cette façon nous avons la certitude que les enfants ont bien ingéré les trois doses de vaccin dans les délais convenables. Le séjour des enfants à la Clinique varie entre cinq et sept semaines. Ensuite, sans que le moindre contact fâcheux puisse avoir lieu, ces enfants sont conduits à la campagne, par l'Œuvre du Placement Familial des Tout-Petits. Cette œuvre possède ses centres en Sologne ; c'est là que les enfants sont placés dans des familles soigneusement choisies, où ils restent sous la surveillance du médecin et des infirmières du centre.

Nous avons utilisé, pour la recherche de la sensibilité à la tuberculine chez les enfants vaccinés, la cuti-réaction de Pirquet et l'intradermo-réaction de Mantoux. La cuti-réaction fut pratiquée suivant la technique habituellement employée en France : une goutte de tuberculine brute de l'Institut Pasteur est déposée au niveau d'une scarification faite au bras à l'aide d'un vaccinostyle. L'intradermo-réaction de Mantoux a retenu particulièrement notre attention. Pour réaliser des injections, qui soient réellement intradermiques, une bonne instrumentation et un peu d'exercice sont nécessaires. Nous nous sommes

servis de dilutions fraîches de tuberculine, car on sait que, si la tuberculine brute ne s'altère pas, les dilutions peuvent perdre plus ou moins rapidement leur activité. La tuberculine brute est soigneusement pesée, puis diluée dans du sérum physiologique de façon à obtenir des dilutions à 1 p. 1.000, 5 p. 1.000 et 10 p. 1.000. Ces dilutions sont employées dans les quarante-huit heures. De ces dilutions nous injectons 1/10 de cent. cube. Cette injection est pratiquée à l'aide d'un nouveau modèle de seringue, dont l'étanchéité parfaite garantit la dose injectée. Pour avoir la certitude que l'injection est réellement intradermique, nous exigeons l'apparition d'une papule blanchâtre avec production de la « peau d'orange ». Pour éviter les accidents fâcheux que pourrait déterminer l'introduction de fortes doses de tuberculine, et afin de pouvoir apprécier le degré de sensibilité individuelle, nous procérons de la façon suivante : nous pratiquons tout d'abord une cuti-réaction. Si elle est positive, nous nous abstenons de pratiquer une intradermo-réaction. Si la cuti-réaction est négative, nous pratiquons une intradermo-réaction avec une dilution de tuberculine à 1 p. 1.000, soit 1/10 de milligramme de tuberculine. Si le sujet ne réagit pas à cette dose, nous injectons 5/10 de milligramme de tuberculine. Enfin, si la réaction reste négative dans ces conditions, nous injectons 1 milligramme de tuberculine. C'est la dose maxima que nous avons employée dans nos recherches. Nous aurions sans doute eu avantage à la dépasser. En tout cas cette façon de procéder nous a permis de poursuivre notre étude dans la plus parfaite sécurité.

Cette série de réactions fut pratiquée à deux catégories d'enfants : l'une comprend les enfants *vaccinés* ; l'autre catégorie d'enfants, qui nous fut particulièrement précieuse, comprend nos *témoins* : ce sont des enfants qui, comme les précédents, sont nés de parents tuberculeux, ont été séparés dès la naissance et vivent dans les mêmes conditions que nos enfants vaccinés. Ces enfants, qui n'ont pas ingéré le BCG, ont été soumis, au même moment, aux mêmes épreuves que les vaccinés. Comme ils ont toujours fourni une réaction tuberculinique négative, nous pouvons affirmer qu'aucune contamination n'a lieu pendant le séjour de ces enfants au placement, et que ceux-ci sont à l'abri du bacille tuberculeux humain ou bovin. A

vrai dire, avant le début de cette série de recherches, nous avons observé dans deux cas une réaction à la tuberculine positive chez des enfants considérés comme *témoins*, mais nous avons pu alors, grâce à une enquête facile, déceler la cause de cette infection : elle était due à des visites faites au Placement par des parents tuberculeux et contagieux, malgré notre défense et à notre insu.'

* * *

Les résultats que nous avons obtenus dans ces conditions sont les suivants : chez les enfants *non vaccinés* servant de *témoins*, nous avons pratiqué 259 cuti-réactions, 120 intradermo-réactions à 1/10 de milligramme, 51 intradermo-réactions à 5/10 de milligramme et 24 intradermo-réactions à 1 milligramme de tuberculine. *Toutes ces réactions nous ont donné des réponses négatives.*

Chez les enfants vaccinés avec le vaccin BCG, les résultats que nous avons obtenus sont d'une netteté absolue. Une première remarque s'impose, c'est la valeur comparative de la cuti-réaction et de l'intradermo-réaction chez ces enfants. La cuti-réaction s'est montrée, chez les enfants vaccinés, comme une méthode assez peu favorable à la recherche de la sensibilité à la tuberculine. Il existe, comme nous le verrons, un très grand écart entre le pourcentage des réactions positives donné par la *cuti-réaction* et celui qui est obtenu avec l'*intradermo-réaction*. Mais, tout d'abord, il est intéressant de noter les caractères objectifs que présentent chacune de ces deux réactions.

L'aspect de la cuti-réaction est variable; quelquefois nous avons obtenu des réactions très intenses, largement infiltrées et saillantes, parfois même phlycténulaires. Nous signalons ce fait, malgré la rareté des cas de ce genre, car il fournit la démonstration qu'une cuti-réaction fortement positive ne constitue pas la preuve, en pareil cas, d'une contamination surajoutée. Le plus souvent, en réalité, la réaction est faible, limitée au trait de scarification, mais la peau est cependant franchement rouge et infiltrée. C'est ce type de réaction que M. Henri Lemaire considère comme étant particulier aux enfants vaccinés par le BCG. Nous l'avons fréquemment observé chez eux, mais on le voit aussi assez souvent, comme nous l'avons

indiqué autrefois, chez les enfants naturellement infectés par le bacille tuberculeux, lorsque l'on pratique des épreuves en séries à la fin de la période antéallergique : aussi avons-nous dénommé ces réactions « réactions faibles initiales ». La réaction peut être plus faible encore et il devient délicat de la lire correctement : la rougeur et l'infiltration sont si discrètes qu'il est impossible d'affirmer que la réaction est positive, et cependant on n'a pas le droit de la considérer comme négative.

Tout autres sont les résultats fournis par l'*intradermo-réaction* dont les caractères objectifs sont toujours très nets. On sait, en effet, que l'existence de fausses réactions, qui viendrait compliquer la lecture des résultats, ne peut être invoquée (1). En fait nous n'en avons pas rencontré une seule parmi nos 141 témoins, chez qui nous avons pratiqué 193 intradermo-réactions, avec des doses variables de tuberculine. Une réaction positive ne peut pas être confondue avec une réaction négative. En effet, dans le cas de réaction négative, quarante-huit heures après l'injection, on pourra seulement percevoir le point de pénétration de l'aiguille. Cependant, chez certains enfants dont la peau est particulièrement sensible, il se produit une réaction d'ordre traumatique qu'il est important de bien connaître. Dans ce cas on voit une petite papule de dimensions à peine lenticulaires, dont la teinte est rose pâle ; l'infiltration du derme qui l'accompagne est très discrète, ne dépassant en aucun cas la zone érythémateuse. Cette réaction disparaît au bout de quarante-huit heures sans laisser de traces. Ces caractères de la réaction traumatique sont très différents de ceux que présente la réaction positive. En effet, la réaction positive est caractérisée par une papule très saillante, dont les dimensions varient entre 1 et 3 centimètres de diamètre ; sa teinte est rouge violacé ; l'infiltration du derme est franche, mais surtout elle dépasse largement le placard érythémateux. Cette réaction a une durée moyenne de huit jours. Progressivement la teinte rouge s'efface et la papule s'affaisse. Souvent, à sa place, on voit apparaître une tache pigmentaire qui va persister pendant deux à trois semaines. Dans quelques cas l'aspect de la réaction positive est un peu

(1) Nous avons suffisamment insisté sur ce point à la *Société de Biologie* pour n'y pas revenir (séances des 21 mai et 18 juin 1929 et *Bulletin de la Société de Pédiatrie*, 5 mai 1929, p. 275 ; 6 juin 1929, p. 287 et 301).

différent : parfois la papule, qui est toujours très saillante, présente une teinte blafarde. Quelquefois on assiste à la vésiculation. Dans tous les cas il est très aisément de distinguer la réaction positive de la réaction traumatique. Si un doute persiste, il suffit d'injecter une dose plus forte de tuberculine : la réaction traumatique reste la même ; quelle que soit la dose de tuberculine injectée, la réaction positive voit son intensité s'accroître franchement.

Pour éviter toute espèce de suggestion dans l'appréciation de nos résultats, nous avons procédé à la lecture des réactions sans nous enquérir auparavant si le sujet était vacciné ou non. Ce n'est qu'en confrontant ultérieurement nos tableaux de réactions avec les fiches individuelles de chaque enfant, que nous avons pu distinguer les enfants *vaccinés* des *témoins*.

Nous avons poursuivi nos recherches sur la sensibilité tuberculinique des enfants vaccinés avec le vaccin BCG, depuis le mois de novembre 1928 jusqu'au mois d'août 1929. Sur le nombre total d'enfants, qui est de 132, chez 15 toutes nos réactions sont restées *négatives*, et chez 117 nous avons eu des réponses *positives* pendant toute la durée de notre étude. La sensibilité tuberculinique est donc loin d'être rare chez les nourrissons vaccinés. Voici le tableau général de nos réactions qui nous permettra de tirer certaines conclusions.

Tableau général des réactions chez les enfants vaccinés.

AGE DE L'ENFANT	NOMBRE d'enfants examinés	CUTI positives	INTRADERMO positives à 1/10 de milligramme	INTRADERMO positives à 5/10 de milligramme	INTRADERMO positives à 1 milligramme	TOTAL des réactions positives	TOTAL des réactions négatives	RÉACTIONS positives p. 100
De 0 à 3 mois . . .	6	4	2	—	—	6	0	100
De 3 à 6 mois . . .	17	8	9	—	—	17	0	100
De 6 à 9 mois . . .	18	7	9	2	—	18	0	100
De 9 à 12 mois . . .	17	6	9	1	—	16	1	94,1
De 12 à 15 mois . . .	13	2	7	—	—	11	2	84,6
De 15 à 18 mois . . .	11	2	4	2	—	10	4	90,9
De 18 à 21 mois . . .	12	6	3	3	—	12	0	100
De 21 à 24 mois . . .	9	4	4	1	—	9	0	100
De 24 à 27 mois . . .	3	1	1	1	—	3	0	100
De 27 à 30 mois . . .	7	1	1	4	—	6	1	85,7
De 30 à 36 mois . . .	12	—	5	—	4	5	7	41,8
De 36 à 48 mois . . .	7	1	1	1	—	4	3	57,1
Totaux	132	42	55	17	3	117	15	88,6

Cette étude apporte tout d'abord un témoignage de plus, s'il en était besoin, en faveur de l'intradermo-réaction tuberculinique de Mantoux : les épreuves négatives chez les enfants témoins montrent sa fidélité, et les épreuves positives chez les sujets vaccinés sa sensibilité. C'est, en effet, grâce à l'emploi des intradermo-réactions avec des doses croissantes de tuberculine que nous avons pu obtenir un pourcentage de réactions positives beaucoup plus élevé que celui qui avait été fourni par les divers auteurs et par nous-mêmes (avec le professeur Léon Bernard et Marcel Lelong), car nous nous étions tous contentés de la cuti-réaction. Or, précisément dans le cas d'enfants vaccinés par le BCG, on obtient des résultats très différents selon que l'on emploie la cuti-réaction ou l'intradermo-réaction avec des doses croissantes de tuberculine. Dans notre étude, sur 117 réactions positives, nous avons : 42 cuti-réactions positives seulement et 75 intradermo-réactions positives. Cet écart, que l'on ne rencontre pas dans les conditions habituelles de la clinique, signifie bien, à notre sens, que la peau des sujets vaccinés par le BCG est, dans l'ensemble, moins sensible à la tuberculine que celle des sujets infectés par le bacille de Koch, notion que permettait déjà de prévoir la fréquence, chez les vaccinés, des cuti-réactions faibles signalées par M. Henri Lemaire.

Le pourcentage des réactions positives obtenues par nous, étudié suivant l'âge des enfants, est très différent de celui qu'ont indiqué divers auteurs et notamment MM. Weill-Hallé et Turpin. Dans les statistiques présentées par ces auteurs, nous remarquons que le pourcentage très faible des réactions positives à trois mois (4,5 p. 100) augmente d'une façon progressive pour atteindre son maximum vers trois ans et demi (26,6 p. 100). Il semblait donc résulter de cette étude que la sensibilité tuberculinique était habituellement tardive chez les enfants vaccinés par ingestion de BCG : en somme, plus l'enfant prendrait de l'âge et plus il serait fréquent d'obtenir chez lui des réactions positives. En réalité, nous l'avons indiqué déjà, il s'agit là d'enfants vivant dans les grands centres urbains, donc exposés à l'infection tuberculeuse « de la rue ». C'est elle qui permet d'expliquer la progression des réactions positives avec l'âge ; la cuti-réaction positive chez ces enfants est liée tout d'abord à l'absorption du BCG, puis plus tard,

chez un certain nombre d'enfants, à l'infection bacillaire surajoutée. Tandis que, dans notre étude, il s'agit d'enfants chez qui l'infection tuberculeuse ne joue aucun rôle, les réactions positives que nous obtenons sont dues uniquement à la vaccination. Or, notre pourcentage de réactions positives est élevé : il représente 88,6 p. 100 enfants vaccinés et constitue un témoignage précieux et formel en faveur de l'absorption régulière du BCG par le nouveau-né qui a ingéré le bacille-vaccin. En second lieu, l'étude de la sensibilité cutanée vis-à-vis de la tuberculine, envisagée en fonction de l'âge de l'enfant, permet de faire une constatation intéressante. Il est facile de voir que la sensibilité tuberculinique est précoce dans son apparition et qu'elle diminue au fur et à mesure que l'enfant vieillit : cette sensibilité se modifie en ce sens que plus l'enfant prend de l'âge et plus il faut introduire de tuberculine dans la peau pour obtenir une réponse positive, comme le montre le tableau qui suit :

Comparaison des différentes épreuves cutanées à la tuberculine suivant l'âge.

AGE DES ENFANTS	CUTI positives p. 100	INTRADERMO positives à 1/10 de milligr. p. 100	INTRADERMO positives à 5/10 de milligr. p. 100	INTRADERMO positives à 1 milligramme p. 100
De 0 à 3 mois . .	66,6	33,3	—	—
De 3 à 6 mois . .	47	53	—	—
De 6 à 9 mois . .	38,8	50	41,2	—
De 9 à 12 mois . .	37,5	56,2	6,2	—
De 12 à 15 mois . .	18,1	63,6	18,1	—
De 15 à 48 mois . .	30,6	38,8	24,5	6,1

La lecture de ce tableau montre que, déjà dans le cours de la première année de la vie, la sensibilité tuberculinique des enfants vaccinés se modifie et commence à s'atténuer : parmi les enfants qui réagissent à la tuberculine, le pourcentage des cuti-réactions positives baisse et par conséquent celui des intradermo-réactions augmente. Ainsi, parmi les enfants qui réagissent à la tuberculine avant trois mois, nous avons 33,3 p. 100 d'intradermo-réactions positives ; de neuf à douze mois 62,4 p. 100 ; de un an à quinze mois il faut,

pour obtenir une réaction positive, s'adresser à l'intradermo-réaction avec 1/10 et 5/10 de milligramme de tuberculine dans 81,7 p. 100 des cas. A partir du quinzième mois ces modifications s'accentuent; le nombre d'enfants examinés entre quinze mois et quatre ans est de 61. Parmi ces enfants, 12 ne réagissent pas aux doses de tuberculine employées par nous. Sur les 49 enfants qui réagissent positivement, nous avons : 15 cuti-réactions positives, soit 30 p. 100 seulement, et par conséquent 34 intradermo-réactions positives, soit 70 p. 100. Or, parmi ces 34 intradermo-réactions positives, chez 19 enfants, soit 56,8 p. 100, 1/10 de milligramme de tuberculine a suffi pour obtenir une réaction positive; chez 12, soit 35,2 p. 100, il a fallu injecter 1/2 milligramme; enfin chez 3, soit 8,7 p. 100, il a fallu, pour obtenir une réponse positive, injecter 1 milligramme de tuberculine. Cette diminution de la sensibilité tuberculinaire avec l'âge est rendue évidente par certaines de nos observations, comme celles-ci, données à titre d'exemple :

L'enfant Gir... (E.) (observation n° 16, tableau n° 4) présente une cuti-réaction positive le 5 décembre 1928; le 19 avril 1929 sa cuti-réaction est devenue négative, alors que l'intradermo-réaction avec 1/10 de milligramme est fortement positive. Les mêmes résultats sont obtenus le 4 juillet 1929.

L'enfant Aub... (R.) (observation n° 1, tableau n° 1) présente une cuti-réaction douteuse le 5 novembre 1928 et une cuti-réaction négative le 1^{er} mars 1929, alors que l'intradermo-réaction avec 1/10 de milligramme est fortement positive à cette dernière date. La cuti-réaction reste négative aux épreuves ultérieures, l'intradermo-réaction à 1/10 de milligramme diminue d'intensité lors de l'épreuve pratiquée le 16 mai 1929; nous pratiquons le 1^{er} août 1929 une intradermo-réaction avec 5/10 de milligramme, qui donne une réponse fortement positive.

Par ces observations nous voyons que la cuti-réaction peut devenir négative, l'intradermo-réaction restant positive. Nous n'avons pas, jusqu'à présent, vu, de nos propres yeux, l'intradermo-réaction devenir négative, mais les faits, que montrent les tableaux suivants, nous font supposer qu'en poursuivant nos recherches, nous verrions chez certains enfants, soit que toute sensibilité de la peau disparaît, soit que, pour conserver une réaction cutanée positive à la tuberculine, il faudrait augmenter

la dose de tuberculine introduite, au delà de la quantité que nous nous sommes fixée.

La diminution progressive de la sensibilité cutanée à la tuberculine nous a conduits à examiner de près le cas des enfants vaccinés qui n'ont réagi positivement à aucune des épreuves que nous avons pratiquées. Ces enfants sont au nombre de 15 (sur 132). Voici le tableau de ces observations :

Enfants vaccinés dont les réactions tuberculiniques cutanées sont négatives.

OBSERVATIONS	CUTI-RÉACTION (première réaction pratiquée)	INTRADERMO à 1 milligramme (dernière réaction pratiquée)
Tableau I :		
Observation n° 13.	2 ans 7 mois.	3 ans 4 mois.
Observation n° 14.	1 an 7 mois.	2 ans 4 mois.
Tableau II :		
Observation n° 14.	4 mois.	11 mois.
Tableau III :		
Observation n° 28.	2 ans.	2 ans 7 mois.
Observation n° 29.	2 ans 5 mois.	3 ans 1 mois.
Observation n° 30.	2 ans 2 mois.	2 ans 9 mois.
Observation n° 31.	3 mois.	1 an.
Tableau IV :		
Observation n° 29.	2 ans 3 mois.	2 ans 10 mois.
Tableau V :		
Observation n° 38.	5 mois.	1 an 2 mois.
Observation n° 39.	2 ans 4 mois.	3 ans 1 mois.
Observation n° 40.	2 ans 2 mois.	3 ans.
Observation n° 41.	2 ans 6 mois.	3 ans 3 mois.
Observation n° 42.	7 mois.	1 an 3 mois.
Observation n° 43.	2 ans.	2 ans 9 mois.
Observation n° 44.	2 ans 1 mois.	2 ans 10 mois.

Le fait qu'un certain nombre d'enfants vaccinés ne réagissent pas à la tuberculine peut être interprété de façon différente. Il paraît peu probable que le vaccin n'ait pas été ingéré; la vaccination a été pratiquée à la Maternité de la Clinique Baudelocque, de la même façon et dans les mêmes conditions que pour les enfants qui ont réagi positivement à la tuberculine. Dès lors on pourrait penser que l'absorption a pu être variable suivant les sujets, soit que la perméabilité de la muqueuse intestinale ait

permis une absorption plus ou moins abondante, soit que la rapidité plus ou moins grande du transit intestinal ait facilité ou entravé l'absorption totale du vaccin ingéré; dans certaines conditions, la dose réelle de vaccin absorbée serait insuffisante pour déterminer l'apparition d'une réaction positive, du moins avec les doses de tuberculine que nous avons employées.

Mais si nous examinons de plus près les observations où la réaction fut négative, nous voyons qu'il faut tenir un grand compte de l'âge où la réaction a été recherchée. Suivant l'âge auquel les réactions tuberculiniques ont été pratiquées pour la première fois, les enfants peuvent être groupés en deux catégories : d'abord les enfants de deux ans (auxquels il faut joindre un enfant dont la première cuti-réaction a été pratiquée à dix-neuf mois, et l'intradermo-réaction avec 1 milligramme de tuberculine à deux ans et quatre mois), et en second lieu les enfants de moins d'un an. La première catégorie comprend 11 enfants et la seconde catégorie n'en comprend que 4. Cette première constatation montre l'importance de l'âge en pareil cas. Si l'on envisage maintenant les 58 enfants auxquels, avant un an, nous avons pu pratiquer toutes les épreuves tuberculiniques, y compris l'intradermo-réaction avec 1 milligramme de tuberculine, nous voyons qu'un seul n'a pas réagi, soit 1,7 p. 100. Cette première série vient donc apporter un argument important en faveur de l'absorption du BCG par la presque unanimité des enfants auxquels on a fait ingérer le vaccin. Chez 45 enfants d'un à deux ans, 3 ne réagissent pas à la tuberculine, soit 3,9 p. 100. Chez 29 enfants de plus de deux ans, 11 ne réagissent pas, soit 37,9 p. 100. La progression est donc très nette et elle permet de penser que la sensibilité à la tuberculine peut disparaître ou grandement diminuer chez les enfants de plus de deux ans. Nous sommes donc en droit de supposer que leur réaction a été positive à un moment donné et qu'elle est devenue négative par la suite. Cette hypothèse trouve un appui dans les observations de diminution de la sensibilité tuberculinique dont nous venons de parler. Pour les rares enfants plus jeunes, dont les réactions tuberculiniques étudiées avant l'âge d'un an sont toujours restées négatives, on peut penser que la quantité de vaccin absorbé a été trop faible pour déterminer une allergie tuberculinique décelable avec les doses de tuberculine que

TABLEAU I. — "Centre de Marcilly (BCG).

DATE DE NAISSANCE	N°	NOM	5 NOVEMBRE 1928		24 NOVEMBRE 1928		1er MARS 1929		16 MAI 1929		1er AOUT 1929		1er AOUT 1929		
			—	—	C — d	C — o	1/10 ++	C — o	1/10 ++	C — o	1/10 +	C — o	1/10 +	C — o	1/10 +
20 août 1928 . . .	1	Aub... (R.)	—	—	C — o	—	—	C — o	1/10 ++	C — o	1/10 +	C — o	1/10 +	C — o	1/10 +
31 juillet 1928 . . .	2	Blo... (J.)	C — o	1/10 ++	C — o	—	—	C — o	1/10 ++	C — o	1/10 +	C — o	1/10 +	C — o	1/10 +
19 juillet 1928 . . .	3	Ben... (J.)	C +	—	—	—	—	C — o	1/10 ++	C — d	1/10 ++	—	—	—	—
22 janvier 1927 . . .	4	Des... (P.)	C — o	1/10 +	C — o	—	—	C — o	1/10 ++	C — o	1/10 ++	—	—	—	—
14 septembre 1927 . . .	5	Del... (E.)	C — o	1/10 ++	C — o	—	—	C — o	1/10 ++	C — o	1/10 ++	—	—	—	—
24 septembre 1928 . . .	6	Goi... (E.)	C — o	—	C +	—	—	C +	—	C — d	1/10 ++	—	—	—	—
16 janvier 1928 . . .	7	Gal... (J.)	C — o	1/10 ++	C — o	1/10 ++	—	C — o	1/10 ++	C — o	1/10 ++	—	—	—	—
9 juin 1927 . . .	8	Hue... (A.)	C — o	1/20 ++	C ++	—	—	C — o	1/10 ++	C — o	1/10 ++	—	—	—	—
30 mars 1928 . . .	9	Iev... (J.)	C +	—	—	—	—	C — o	1/10 +	C — o	1/10 +	C — o	1/10 +	C — o	1/10 +
8 novembre 1928 . . .	10	Jli... (A.)	C +	—	—	—	—	C +	1/10 ++	—	—	—	—	—	—
27 mars 1929 . . .	11	Miz... (S.)	—	—	—	—	—	C — o	—	C — o	1/10 ++	C — o	1/10 ++	C — o	1/10 ++
7 juin 1928 . . .	12	Oui... (B.)	C — o	1/10 — o	C — o	1/10 +	—	C — o	1/10 ++	C — o	1/10 ++	—	—	—	—
21 mars 1926 . . .	13	Roc... (P.)	C — o	1/10 — o	C — o	1/10 — o	—	C — o	1/10 — o	C — o	1/10 — o	C — o	1/10 — o	C — o	1/10 — o
31 mars 1927 . . .	14	Ver... (G.)	C — o	1/10 — o	C — o	1/10 — o	—	C — o	1/10 — o	C — o	1/10 — o	C — o	1/10 — o	C — o	1/10 — o

Total des réactions : 14. Réactions positives : 12; réactions négatives : 2.

Abréviation : C signifie cuti-réaction ; I signifie intradermo-réaction ; o signifie réaction douteuse ; d signifie faiblement positive ; 1/10 signifie 1/10 de milligramme de tuberculine ; 5/10 signifie 5/10 de milligramme de tuberculine ; un signifie 1 milligramme de tuberculine.

TABLEAU I bis. — Centre de Marcilly (Témoins).

DATE DE NAISSANCE	N°	NOM	5 NOVEMBRE 1928			24 NOVEMBRE 1928			1 ^{er} MARS 1929			16 MAI 1929			1 ^{er} AOUT 1929				
			1 ^{er} NOVEMBRE 1928	24 NOVEMBRE 1928	1 ^{er} MARS 1929	1 ^{er} NOVEMBRE 1928	24 NOVEMBRE 1928	1 ^{er} MARS 1929	1 ^{er} NOVEMBRE 1928	24 NOVEMBRE 1928	1 ^{er} MARS 1929	1 ^{er} NOVEMBRE 1928	24 NOVEMBRE 1928	1 ^{er} MARS 1929	1 ^{er} NOVEMBRE 1928	24 NOVEMBRE 1928	1 ^{er} MARS 1929	1 ^{er} NOVEMBRE 1928	
15 mai 1925	4	Bes... (G.)	—	—	C o	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
20 septembre 1925 . . .	2	Bro... (R.)	C o	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
17 octobre 1927	3	Cas... (A.)	C o	I 4/10 — 0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
22 décembre 1925	4	Del... (C.)	C o	I 4/10 — 0	C o	I 1/10 — 0	C o	I 5/10 — 0	C o	I 5/10 — 0	C o	I un 0	C o	I un 0	C o	I un 0	C o	I un 0	
29 novembre 1924	5	Fou... (R.)	C o	I 4/10 — 0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
7 juin 1925	6	Fer... (C.)	C o	I 4/10 — 0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
6 mai 1928	7	Hua... (J.)	C o	I 4/10 — 0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
30 juin 1926	8	Cha... (J.)	C o	I 4/10 — 0	C o	I 4/10 — 0	C o	I 4/10 — 0	C o	I 4/10 — 0	C o	I un 0	C o	I un 0	C o	I un 0	C o	I un 0	
10 août 1925	9	Leb... (M.)	C o	I 4/10 — 0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
19 février 1927	10	Leg... (H.)	C o	I 4/10 — 0	C o	I 4/10 — 0	C o	I 5/10 — 0	C o	I 5/10 — 0	C o	I un 0	C o	I un 0	C o	I un 0	C o	I un 0	
4 ^{er} octobre 1925	11	Leg... (C.)	C o	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 février 1926	42	Luc... (M.)	C o	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
24 août 1927	13	Mar... (R.)	C o	I 4/10 — 0	C o	I 4/10 — 0	C o	I 5/10 — 0	C o	I 5/10 — 0	C o	I un 0	C o	I un 0	C o	I un 0	C o	I un 0	
24 juillet 1927	14	Reg... (M.)	C o	I 4/10 — 0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
23 septembre 1926 . . .	15	Tim... (J.)	C o	I 4/10 — 0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
5 novembre 1925	16	Tou... (M.)	C o	I 4/10 — 0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
15 juillet 1927	17	Val... (P.)	C o	I 4/10 — 0	C o	I 4/10 — 0	C o	I 5/10 — 0	C o	I 5/10 — 0	C o	I un 0	C o	I un 0	C o	I un 0	C o	I un 0	

Total des réactions : 17. Réaction positive : 0; réactions négatives : 17.

Réactions négatives. Culi : 30; I 1/10 : 48; I 5/10 : 3; I un : 3.

TABLEAU II. — Centre de Blançacort (BCG).

DATE DE NAISSANCE	Nº	NOM	5 DÉCEMBRE 1928	7 JANVIER 1929	21 AVRIL 1929		4 JUILLET 1929		4 JUILLET 1929	
					21 AVRIL 1929	4 JUILLET 1929				
22 octobre 1927	1	Ande... (F.).	C—o	1 1/10—o	C—o	1 3/10—o	C—o	1 un ++		
3 mars 1928	2	Bocq... (F.).	C—o	1 1/10 +	C—o	—	C—o	1 1/10 +		
15 avril 1927	3	Bouc... (J.).	C—o	1 1/10 +	C—o	—	C—o	1 1/10 +		
10 novembre 1926	4	Bour... (C.).	C—o	1 1/10—o	C—o	1 3/10 +/++	C—o	1 5/10 +		
31 octobre 1927	5	Bourg... (C.).	C—o	1 1/10—o	C—o	1 3/10 +/++	C—o	1 5/10 +		
21 août 1928	6	Coll... (C.).	C+	—	C—o	—	C—o	1 1/10 +		
8 février 1928	7	Ches... (F.).	C+	—	C—o	—/	C—o	1 1/10—o		
23 janvier 1928	8	Four... (E.).	C—o	1 1/10—o	C—o	1 3/10 +	C—o	1 un 0		
1er mars 1928	9	Hina... (R.).	C+	—	—	—	—	—		
24 juin 1927	10	Mais... (R.).	C—d	1 1/10 +	C—o	—	C—o	1 1/10 +		
26 mars 1928	11	Thor... (A.).	C+	—	C++	—	C f +	1 1/10 +		
6 juin 1927	12	Vall... (M.-T.).	C—o	1 1/10 +	C—o	1 1/10 +	C—o	1 1/10 +		
4 avril 1928	13	Vann... (G.).	C—o	1 1/10—o	C—o	1 3/10 +	C—o	1 5/10 +		
10 août 1928	14	Lemo... (L.).	C—o	1 1/10—o	C—o	1 3/10 +	C—o	1 5/10 +		

Total des réactions : 14. Réactions positives : 13; réaction négative : 1.

TABLEAU II bis. — Centre de Blancafert (Témoins).

DATE DE NAISSANCE	N°	NOM	5 DÉCEMBRE 1928	7 JANVIER 1929			21 AVRIL 1929			4 JUILLET 1929		
				24 FÉVRIER 1929	Bal... (M.)	—	—	—	C. o.	—	—	—
29 février 1928	1	Ben... (H.)	C. o.	1 1/10 — 0	—	—	—	—	C. o.	1 5/10 — 0	C. o.	1 5/10 — 0
1 ^r février 1928	2	Ber... (M.)	—	—	—	—	—	—	C. o.	—	C. o.	1 1/10 — 0
29 novembre 1926	3	Ber... (R.)	C. o.	1 1/10 — 0	—	—	—	—	C. o.	1 5/10 — 0	C. o.	1 5/10 — 0
24 mars 1928	4	Coë... (G.)	C. o.	1 1/10 — 0	—	—	—	—	C. o.	1 1/10 — 0	C. o.	1 5/10 — 0
21 décembre 1926	5	Cnu... (H.)	C. o.	1 1/10 — 0	—	—	—	—	C. o.	1 5/10 — 0	—	—
30 janvier 1928	6	Dec... (M.-J.)	—	—	—	—	—	—	C. o.	—	C. o.	1 4/10 — 0
9 octobre 1926	7	Dud... (M.-F.)	C. o.	1 1/10 — 0	—	—	—	—	C. o.	—	C. o.	1 5/10 — 0
9 novembre 1927	8	Fay... (S.)	C. o.	1 1/10 — 0	—	—	—	—	C. o.	1 5/10 — 0	C. o.	1 5/10 — 0
6 septembre 1927	9	Fay... (S.)	C. o.	1 1/10 — 0	—	—	—	—	C. o.	1 5/10 — 0	C. o.	1 5/10 — 0
9 septembre 1927	10	Gil... (R.)	C. o.	1 1/10 — 0	—	—	—	—	C. o.	1 5/10 — 0	C. o.	1 5/10 — 0
1 ^r juin 1927	11	Hel... (J.)	C. o.	1 1/10 — 0	—	—	—	—	C. o.	1 5/10 — 0	C. o.	1 un 0
24 novembre 1927	12	Jui... (M.)	C. o.	1 1/10 — 0	—	—	—	—	C. o.	—	C. o.	—
26 mai 1926	13	Kai... (E.)	—	—	—	—	—	—	C. o.	1 4/10 — 0	C. o.	1 4/10 — 0
12 janvier 1926	14	Laf... (L.)	C. o.	1 4/10 — 0	—	—	—	—	C. o.	1 5/10 — 0	C. o.	1 un 0
21 juillet 1925	15	Leg... (R.)	C. o.	1 1/10 — 0	—	—	—	—	C. o.	1 5/10 — 0	C. o.	1 5/10 — 0
3 janvier 1928	16	Lem... (A.)	C. o.	1 4/10 — 0	—	—	—	—	C. o.	—	C. o.	1 4/10 — 0
6 mars 1926	17	Oli... (M.)	—	—	—	—	—	—	C. o.	—	C. o.	1 4/10 — 0
21 mars 1926	18	Pas... (J.)	C. o.	1 1/10 — 0	—	—	—	—	C. o.	1 4/10 — 0	C. o.	1 4/10 — 0
16 novembre 1927	19	Per... (J.)	C. o.	—	—	—	—	—	C. o.	1 4/10 — 0	C. o.	1 4/10 — 0
	20	Vat... (M.-T.)	C. o.	1 4/10 — 0	—	—	—	—	C. o.	1 4/10 — 0	C. o.	1 4/10 — 0

Total des réactions : 20. Réaction positive : 0; réactions négatives : 20.

Réactions négatives. Cuti : 43; 1 4/10 : 23; 1 5/10 : 43; 1 un : 3.

TABLEAU III. — Centre de Salbris (BCG).

DATE DE NAISSANCE	N°	NOM	5 NOVEMBRE 1928	24 NOVEMBRE 1929	48 MAI 1929	18 MAI 1929	2 AOÛT 1929	2 AOÛT 1929
			—	—	—	—	—	—
27 juillet 1926	1	Aubr... (J.).	C +	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
29 novembre 1926	2	Aubr... (M.).	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
14 février 1927	3	Bula... (J.).	C - o	I 1/10 - o	C - o	I 5/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
16 octobre 1926	4	Bess... (P.).	C - o	I 1/10 - o	C - o	I 5/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
4 octobre 1928	5	Bouc... (R.).	C - o	I 1/10 - o	C - o	I 5/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
26 août 1927	6	Céol... (M.).	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
5 mai 1927	7	Cous... (J.).	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
23 février 1928	8	Dang... (R.).	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
4 février 1927	9	Denr... (D.).	C + + +	I 1/10 -	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
5 novembre 1927	10	Duva... (R.).	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
31 janvier 1927	11	Gicq... (G.).	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
27 avril 1926	12	Gigoo... (R.).	C - + +	—	C - +	I 1/10 + + +	C f +	I 1/10 + + +
24 décembre 1926	13	Gues... (A.).	C - + + +	—	C - +	I 1/10 + + +	C - d	I 1/10 + + +
40 juillet 1928	14	Guil... (J.).	C f +	I 1/10 + + +	C f +	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
23 février 1928	15	Heru... (R.).	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
24 janvier 1928	16	Leco... (M.).	C - +	I 1/10 -	C - o	I 1/10 + + +	C f +	I 1/10 + + +
11 octobre 1927	17	Lema... (J.).	C - o	I 1/10 - o	C - o	I 5/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
30 juillet 1926	18	Lema... (R.).	—	—	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
3 octobre 1928	19	Le De... (R.).	—	—	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
20 août 1926	20	Mart... (J.).	C - o	I 1/10 - o	C - o	I 5/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
25 août 1928	21	Merc... (P.).	C f +	—	C f +	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
19 octobre 1928	22	Mome... (L.).	—	—	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
31 juillet 1928	23	Pate... (J.).	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
29 octobre 1927	24	Pauv... (J.).	—	—	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
6 mai 1929	25	Pina... (C.).	—	—	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
2 janvier 1928	26	Ra... (V.-G.).	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
3 octobre 1927	27	Zieb... (R.).	C f +	—	C f +	I 1/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
29 novembre 1926	28	Aubr... (Mo.).	C - o	I 1/10 - o	C - o	I 5/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
15 juin 1926	29	Bert... (H.).	C - o	I 1/10 - o	C - o	I 5/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
43 septembre 1926	30	Bo... (Des.).	C - o	I 1/10 - o	C - o	I 5/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +
21 mai 1928	31	Maur... (M.).	C - o	I 1/10 - o	C - o	I 5/10 + + +	C - o	I 1/10 + + +

Total des réactions : 37. Réactions positives : 27; réactions négatives : 4.

TABLEAU III bis. — Centre de Salbris (Témoins).

DATE DE NAISSANCE	N°	NOM	5 NOVEMBRE 1928	24 NOVEMBRE 1928	18 MAI 1929	2 AOUT 1929	2 AOUT 1929
			5 NOVEMBRE 1928	24 NOVEMBRE 1928	18 MAI 1929	2 AOUT 1929	2 AOUT 1929
24 décembre 1925	1	Ama... (E.)	C 0	1 1/10 — 0	C 0	1 5/10 — 0	—
4 août 1927	2	Ber... (R.)	C 0	—	—	—	—
8 septembre 1925	3	Bou... (J.)	C 0	—	—	—	—
20 décembre 1926	4	Bou... (J.)	C 0	—	—	—	—
3 décembre 1926	5	Bro... (J.)	C 0	1 1/10 — 0	C 0	1 5/10 — 0	C 0
10 juin 1927	6	Cab... (A.)	C 0	1 1/10 — 0	C 0	1 5/10 — 0	C 0
14 mai 1927	7	Cro... (G.)	C 0	1 1/10 — 0	C 0	1 5/10 — 0	—
7 septembre 1925	8	Cha... (J.)	C 0	—	—	—	—
10 décembre 1927	9	Chaz... (S.)	C 0	1 1/10 — 0	C 0	1 5/10 — 0	—
29 mars 1925	10	Che (J.)	C 0	—	—	—	—
7 septembre 1927	11	Del... (J.)	C 0	—	—	—	—
2 novembre 1927	12	Den... (J.)	C 0	—	—	—	—
5 mars 1927	13	Guy... (J.)	C 0	1 1/10 — 0	—	—	—
21 octobre 1925	14	Imb... (P.)	C 0	—	—	—	—
23 avril 1928	15	Ker... (A.)	C 0	1 1/10 — 0	—	—	—
24 janvier 1928	16	Lou... (R.)	C 0	—	—	—	—
2 février 1926	17	Lin... (L.)	C 0	1 1/10 — 0	C 0	1 5/10 — 0	—
16 juin 1925	18	Lac... (N.)	C 0	1 1/10 — 0	C 0	1 5/10 — 0	—
15 mai 1927	19	Lar... (T.)	C 0	—	—	—	—
9 janvier 1926	20	Mor... (G.)	C 0	1 1/10 — 0	C 0	1 3/10 — 0	—
26 décembre 1925	21	Plo... (R.)	C 0	—	—	—	—
29 octobre 1927	22	Pau... (J.)	C 0	—	—	—	—
21 avril 1928	23	Roc... (A.)	C 0	1 1/10 — 0	C 0	1 5/10 — 0	—
27 août 1924	24	Rif... (L.)	C 0	—	—	—	—
22 février 1926	25	Sae... (R.)	C 0	—	—	—	—
4 décembre 1925	26	Sau... (A.)	C 0	—	—	—	—
15 octobre 1925	27	Vas... (R.)	C 0	1 1/10 — 0	—	—	—
3 avril 1928	28	Ver... (J.)	C 0	1 1/10 — 0	—	—	—

Total des réactions : 28. Réaction positive : 0; réactions négatives : 28.
Réactions négatives. Cuti : 43; 1 1/10 : 44; 1 5/10 : 40; 1 un : 5.

TABLEAU IV. — Centre d'Argens (BCG).

DATE DE NAISSANCE	N°	NOM	5 DÉCEMBRE 1928		7 JANVIER 1929		19 AVRIL 1929		4 JUILLET 1929		4 JUILLET 1929	
			1928	1929	1928	1929	1928	1929	1928	1929	1928	1929
8 novembre 1928	1	Aba... (An.)	—	C f +	C — o	I 1/40 + +	C f +	I 1/40 + + +	C f +	I 1/40 + + +	C — o	I 1/40 + + +
29 juillet 1928	2	Barr... (H.)	C — o	I 1/40 — o	C — o	I 1/10 +	—	—	C — o	I 1/10 + + +	C — o	I 1/10 + + +
12 février 1928	3	Bois... (J.)	C — +	I 1/10 +	C f +	I 1/10 + +	—	—	C f +	I 1/10 + + +	C — o	I 1/10 + + +
10 mars 1928	4	Broy... (G.)	C — +	—	C — o	I 1/40 + + +	—	—	C f +	I 1/10 + + +	C — o	I 1/10 + + +
3 septembre 1928	5	Bell... (Y.)	C — o	I 1/40 + + +	C — o	—	—	—	C — o	I 1/10 + + +	C — o	I 1/10 + + +
17 juillet 1928	6	Coac... (N.)	C — o	I 1/40 + + +	C — o	—	—	—	C — o	I 1/10 + + +	C — o	I 1/10 + + +
14 octobre 1928	7	Col... (J.)	C — o	I 1/40 + + +	C — o	—	—	—	C — o	I 1/10 + + +	C — o	I 1/10 + + +
29 septembre 1928	8	Coll... (L.)	C — +	C — o	C f +	—	—	—	C — o	I 1/10 + + +	C — o	I 1/10 + + +
29 février 1927	9	Chab... (J.)	C — +	—	C — o	I 1/10 — + + +	—	—	C f +	I 1/10 + + +	C — o	I 1/10 + + +
22 juillet 1927	10	Cris... (M.)	C — o	—	C — o	I 1/10 — + + +	—	—	C — o	I 1/10 + + +	C — o	I 1/10 + + +
23 octobre 1927	11	Cur... (A.)	C — o	I 1/40 — o	C — o	—	—	—	C — o	I 1/10 + + +	C — o	I 1/10 + + +
17 mars 1927	12	Duch... (J.)	C — o	I 1/10 + + +	C — o	—	—	—	C — o	I 1/10 + + +	C — o	I 1/10 + + +
24 juin 1928	13	Fili... (A.)	C — o	I 1/10 + + +	C — +	—	—	—	C f +	I 1/10 + + +	C — +	I 1/10 + + +
7 décembre 1926	14	From... (L.)	C — +	—	C f +	—	—	—	C f +	I 1/10 + + +	C — +	I 1/10 + + +
20 mars 1927	15	Cran... (C.)	C — +	—	C — o	—	—	—	C — o	I 1/10 + + +	C — o	I 1/10 + + +
29 mars 1927	16	Gir... (E.)	C — +	—	C — o	—	—	—	C — o	I 1/10 + + +	C — o	I 1/10 + + +
3 novembre 1926	17	Guil... (M.)	C — o	I 1/10 +	C — o	—	—	—	C — o	I 1/10 + + +	C — o	I 1/10 + + +
28 novembre 1928	18	Jarr... (J.)	C — o	I 1/10 — o	C — o	—	—	—	C — o	I 1/10 + + +	C — o	I 1/10 + + +
13 août 1927	19	Lev... (C.)	C — o	—	C — o	—	—	—	C — o	I 1/10 + + +	C — o	I 1/10 + + +
22 octobre 1928	20	Malib... (R.)	C — +	C — o	I 1/10 — o	—	—	—	C — o	I 5/10 + + +	C — o	I 5/10 + + +
17 novembre 1927	21	Cris... (R.)	C — o	I 1/10 — o	C — o	—	—	—	C — o	I 5/10 + + +	C — o	I 5/10 + + +
12 janvier 1928	22	Piou... (R.)	C — o	I 1/10 — o	C — o	—	—	—	C — o	I 5/10 — o	C — o	I 5/10 + + +
4 novembre 1927	23	Frig... (S.)	C — o	I 1/10 + + +	C — o	—	—	—	C — o	I 1/10 + + +	C — o	I 1/10 + + +
23 juin 1928	24	Rag... (J.)	C — o	I 1/10 — o	C — o	—	—	—	C — o	I 1/10 + + +	C — o	I 1/10 + + +
3 décembre 1927	25	Ros... (R.)	C — +	—	C — o	I 1/10 — o	—	—	C — o	I 5/10 + + +	C — o	I 5/10 + + +
24 mars 1928	26	Sam... (M.)	C — o	I 1/10 +	C — o	—	—	—	C — o	I 1/10 + + +	C — o	I 1/10 + + +
4 février 1929	27	Sain... (R.)	C — +	—	C — o	I 1/10 —	—	—	C f +	I 1/10 + + +	C — o	I 1/10 + + +
15 octobre 1927	28	Vigu... (G.)	C — +	I 1/10 +	C — o	I 1/10 — o	—	—	C — o	I 1/10 + + +	C — o	I 1/10 + + +
3 septembre 1926	29	Pida... (R.)	C — o	I 1/10 — o	C — o	I 5/10 — o	—	—	C — o	I 1/10 + + +	C — o	I 1/10 + + +

Total des réactions : 29. Réactions positives : 28; réaction négative : 1.

TABLEAU IV bis. — Centre d'Argens (Témoins).

DATE DE NAISSANCE	N°	NOM	5 DÉCEMBRE 1928		7 JANVIER 1929		19 AVRIL 1929		4 JUILLET 1929		4 JUILLET 1929	
			1928	1929	1928	1929	1928	1929	1928	1929	1928	1929
20 février 1926	1	Auc... (A.)	C 0	C 0	1 1/40 — 0	—	—	—	C 0	C 0	1 un 0	1 un 0
12 avril 1928	2	Bac... (M.)	C 0	C 0	1 1/40 — 0	—	—	—	C 0	C 0	1 un 0	1 un 0
5 janvier 1928	3	Bai... (A.)	C 0	C 0	1 1/40 — 0	—	—	—	—	—	—	—
14 décembre 1927	4	Bai... (P.)	C 0	C 0	1 1/40 — 0	—	—	—	—	—	—	—
16 novembre 1927	5	Bau... (P.)	C 0	C 0	1 1/10 — 0	—	—	—	—	—	—	—
16 mai 1927	6	Bol... (D.)	C 0	C 0	1 1/10 — 0	—	—	—	—	—	—	—
16 mars 1928	7	Bou... (G.)	C 0	C 0	—	—	—	—	—	—	—	—
4 avril 1928	8	Bou... (J.)	C 0	C 0	—	—	—	—	C 0	C 0	1 5/40 — 0	1 1/10 — 0
27 février 1926	9	Car... (O.)	C 0	C 0	1 1/40 — 0	—	—	—	C 0	C 0	1 1/10 — 0	1 1/10 — 0
30 mai 1927	10	Cha... (Y.)	C 0	C 0	1 1/40 — 0	—	—	—	C 0	C 0	1 4/10 — 0	1 4/10 — 0
2 décembre 1925	11	Cha... (P.)	C 0	C 0	1 1/10 — 0	—	—	—	C 0	C 0	1 1/10 — 0	1 1/10 — 0
19 mars 1924	12	Dam... (R.)	C 0	C 0	—	—	—	—	—	—	—	—
7 octobre 1927	13	Dro... (P.)	C 0	C 0	—	—	—	—	C 0	C 0	1 1/40 — 0	1 1/40 — 0
3 décembre 1925	14	Her... (R.)	C 0	C 0	—	—	—	—	C 0	C 0	—	—
10 octobre 1926	15	Jaf... (M.)	C 0	C 0	1 1/40 — 0	—	—	—	C 0	C 0	1 4/10 — 0	1 4/10 — 0
8 décembre 1927	16	Kab... (M.)	C 0	C 0	—	—	—	—	C 0	C 0	1 5/10 — 0	1 5/10 — 0
21 février 1926	17	Loh... (P.)	C 0	C 0	1 1/10 — 0	—	—	—	C 0	C 0	1 5/10 — 0	1 5/10 — 0
2 janvier 1927	18	Lof... (S.)	C 0	C 0	—	—	—	—	C 0	C 0	1 4/10 — 0	1 4/10 — 0
21 décembre 1926	19	Leg... (G.)	C 0	C 0	—	—	—	—	C 0	C 0	1 1/10 — 0	1 1/10 — 0
1 ^{er} janvier 1927	20	Lem... (H.)	C 0	C 0	—	—	—	—	C 0	C 0	—	—
26 novembre 1925	21	Los... (L.)	C 0	C 0	—	—	—	—	C 0	C 0	—	—
3 juin 1927	22	Lot... (R.)	C 0	C 0	1 1/10 — 0	—	—	—	C 0	C 0	1 4/10 — 0	1 4/10 — 0
9 janvier 1926	23	Lot... (M.)	C 0	C 0	—	—	—	—	C 0	C 0	1 1/10 — 0	1 1/10 — 0
30 mars 1927	24	Mat... (A.)	C 0	C 0	1 1/10 — 0	—	—	—	C 0	C 0	1 1/10 — 0	1 1/10 — 0
17 juillet 1927	25	Mab... (S.)	C 0	C 0	1 1/10 — 0	—	—	—	C 0	C 0	—	—
24 avril 1928	26	Mot... (R.)	C 0	C 0	1 1/10 — 0	—	—	—	C 0	C 0	1 4/10 — 0	1 4/10 — 0
21 septembre 1924	27	Phi... (J.)	C 0	C 0	1 1/10 — 0	—	—	—	C 0	C 0	—	—
18 novembre 1926	28	Pic... (J.)	C 0	C 0	1 1/10 — 0	—	—	—	C 0	C 0	—	—
2 décembre 1926	29	Pou... (M.)	C 0	C 0	1 1/10 — 0	—	—	—	C 0	C 0	1 4/10 — 0	1 4/10 — 0
15 janvier 1925	30	Roc... (R.)	C 0	C 0	—	—	—	—	C 0	C 0	1 1/10 — 0	1 1/10 — 0
18 août 1927	31	Bol... (A.)	C 0	C 0	1 1/10 — 0	—	—	—	C 0	C 0	1 5/10 — 0	1 5/10 — 0
20 octobre 1926	32	St... (P.-O.)	C 0	C 0	—	—	—	—	C 0	C 0	1 4/10 — 0	1 4/10 — 0
17 mars 1925	33	St... (P.-T.)	C 0	C 0	—	—	—	—	C 0	C 0	1 4/10 — 0	1 4/10 — 0
30 octobre 1927	34	Sed... (G.)	C 0	C 0	—	—	—	—	C 0	C 0	1 4/10 — 0	1 4/10 — 0

Total des réactions : 84. Réaction positive : 0 ; réactions négatives : 34.
Réactions négatives. Cuti : 68 ; 1 1/10 : 44 ; 1 5/10 : 8 ; 1 un : 3.

TABLEAU V. — Centre de la Ferté (BCG).

DATE DE NAISSANCE	N°	NOM	5 NOVEMBRE 1928		24 NOVEMBRE 1928		1er MARS 1929		16 MARS 1929		16 MAI 1929		1er AOÛT 1929	
			—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
17 juillet 1927 . . .	1	Bale... (P.)	C—+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8 novembre 1926 . . .	2	Berg... (A.)	C—+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13 février 1927 . . .	3	Big... (O.)	C—o	I 1/10 — o	—	—	—	—	C—o	I 3/10 ++	—	C—o	I 5/10 ++	—
16 avril 1926 . . .	4	Boil... (M.)	C—o	I 1/10 +	C—o	I 1/10 +	—	—	C—o	I 1/10 +	—	C—o	I 5/10 ++	—
16 mars 1927 . . .	5	Bois... (G.)	C—o	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 juin 1928 . . .	6	Boisg... (H.)	C—o	I 1/10 +	—	—	—	—	C—o	I 1/10 +	—	C—o	I 1/10 +	—
14 mai 1928 . . .	7	Bomb... (S.)	C—+	—	—	—	—	—	C—o	I 1/10 +	—	C—o	I 1/10 +	—
14 janvier 1928 . . .	8	Burs... (L.)	C—+	—	—	—	—	—	C—o	I 1/10 +	—	C—o	I 1/10 +	—
21 octobre 1928 . . .	9	Cau... (A.)	C—o	—	—	—	—	—	C—o	—	—	C—o	—	—
9 août 1927 . . .	10	Char... (J.)	C—o	I 1/10 +	—	—	—	—	C—o	I 1/10 +	—	C—o	I 1/10 +	—
14 mai 1927 . . .	11	Delo... (J.)	C—+	—	—	—	—	—	C—o	I 1/10 +	—	C—o	I 1/10 +	—
30 août 1928 . . .	12	Desc... (M.)	C—+	—	—	—	—	—	C—o	I 1/10 +	—	C—o	I 1/10 +	—
7 février 1925 . . .	13	Dupl... (Y.)	C—+	—	—	—	—	—	C—o	I 1/10 +	—	C—o	I 1/10 +	—
10 février 1928 . . .	14	Fer... (A.)	C—o	I 1/10 +	C—o	I 1/10 +	—	—	C—o	I 1/10 +	—	C—o	I 1/10 +	—
20 mars 1929 . . .	15	Fer... (J.)	C—+	—	—	—	—	—	C—o	I 1/10 +	—	C—o	I 1/10 +	—
6 juin 1926 . . .	16	Fio (C.)	C—o	I 1/10 +	C—o	I 1/10 +	—	—	C—o	I 1/10 +	—	C—o	I 1/10 +	—
17 mai 1925 . . .	17	Gaut... (M.)	C—o	I 1/10 +	C—o	I 1/10 +	—	—	C—o	I 1/10 +	—	C—o	I 1/10 +	—
13 juillet 1928 . . .	18	Gous... (B.)	C—	—	—	—	—	—	C—o	I 1/10 +	—	C—o	I 1/10 +	—
4 juillet 1926 . . .	19	Gog... (S.)	C—o	I 1/10 — o	C—o	I 1/10 —	—	—	C—o	I 1/10 — o	—	C—o	I 5/10 +	—
26 février 1926 . . .	20	Goul... (J.)	C—o	I 1/10 +	C—o	I 1/10 +	—	—	C—o	I 1/10 +	—	C—o	I 1/10 +	—
10 juillet 1926 . . .	21	Hous... (J.)	C—o	I 1/10 — o	C—o	I 1/10 —	—	—	C—o	I 5/10 — o	—	C—o	I un +	—
17 janvier 1927 . . .	22	Huta... (R.)	C—o	I 1/10 +	C—o	I 1/10 +	—	—	C—o	I 1/10 — o	—	C—o	I 5/10 +	—
11 août 1928 . . .	23	Hube... (R.)	C—	—	—	—	—	—	C—o	I 1/10 +	—	C—o	I 1/10 +	—
14 septembre 1928 .	24	Henr... (R.)	C—	—	—	—	—	—	C—o	I 1/10 +	—	C—o	I 1/10 +	—
19 septembre 1928 .	25	Lagr... (R.)	C—o	I 1/10 +	C—o	I 1/10 +	—	—	C—o	I 1/10 +	—	C—o	I 5/10 +	—
21 juin 1927 . . .	26	Le Ca... (M.)	C—o	I 1/10 +	C—o	I 1/10 +	—	—	C—o	I 5/10 +	—	C—o	I 1/10 +	—
3 septembre 1928 .	27	Lesc... (J.)	C—+	—	—	—	—	—	C—o	I 1/10 +	—	C—o	I 1/10 +	—
22 avril 1929 . . .	28	Le... (R.-C.)	C—	—	—	—	—	—	C—o	I 1/10 +	—	C—o	I 1/10 +	—
29 février 1928 . . .	29	Mich... (S.)	Cf +	—	—	—	—	—	C—o	I 1/10 +	—	C—o	I 1/10 +	—
40 novembre 1927 . . .	30	Mull... (G.)	C—o	I 1/10 +	C—o	I 1/10 +	—	—	C—o	I 1/10 +	—	C—o	I 1/10 +	—
26 février 1926 . . .	31	Past... (J.)	C—o	I 1/10 — o	C—o	I 1/10 —	—	—	C—o	I 1/10 — o	—	C—o	I 1/10 — o	—
8 juillet 1928 . . .	32	Rabi... (R.)	C—o	I 1/10 +	C—o	I 1/10 +	—	—	C—o	I 1/10 +	—	C—o	I 1/10 +	—

148 mai 1928	36 Vasl... (G.).	C - +	1 1/40 +	C - +	1 1/40 +
149 31 août 1928	37 Val... (B.).	C f +	1 1/40 +	C - 0	1 1/40 +
144 mai 1928	38 Amor... (G.).	C - 0	1 1/10 - 0	C - 0	1 5/10 - 0
120 juin 1926	39 Clem... (G.).	C - 0	1 1/10 - 0	C - 0	1 5/10 - 0
120 août 1926	40 Dimi... (A.).	C - 0	1 1/10 - 0	C - 0	1 5/10 - 0
44er mai 1926	41 Lign... (R.).	C - 0	1 1/10 - 0	C - 0	1 5/10 - 0
223 mars 1928	42 Mai... (H.).	C - 0	1 1/10 - 0	C - 0	1 5/10 - 0
227 octobre 1926	43 Piff... (A.).	C - 0	1 1/10 - 0	C - 0	1 5/10 - 0
228 septembre 1926	44 Sali... (H.).	C - 0	1 1/10 - 0	C - 0	1 5/10 - 0

Total des réactions : 44. Réactions positives : 37; négatives : 7.

TABLEAU V bis. — Centre de la Ferté (Témoins).

DATE DE NAISSANCE	N°	NOM	5 NOVEMBRE 1928	24 NOVEMBRE 1928	1er MARS 1929	16 MAI 1929	1er AOÛT 1929	1er AOÛT 1929
12 mars 1925	47	Lac... (P.)	C o	1 4/10 — 0	C o	1 4/10 — 0	C o	1 5/10 — 0
29 novembre 1924	48	Lav... (O.)	C o	1 1/10 — 0	—	—	—	—
21 juin 1928	49	Lev... (M.)	C o	1 1/10 — 0	—	—	—	—
24 octobre 1927	20	Lo... (N.-L.)	C o	1 1/10 — 0	—	—	—	—
1er juillet 1926	21	Man... (H.)	C o	1 1/10 — 0	—	—	—	—
21 juillet 1926	22	Mar... (G.)	C o	—	—	—	—	—
20 juillet 1927	23	Mas... (N.)	C o	1 1/10 — 0	C o	1 4/10 — 0	C o	1 5/10 — 0
24 juillet 1925	24	Mat... (P.)	C o	1 1/10 — 0	—	—	C o	1 3/10 — 0
17 mai 1928	25	Mic... (G.)	C o	1 1/10 — 0	—	—	C o	1 5/10 — 0
22 novembre 1926	26	Mou... (G.)	C o	1 1/10 — 0	C o	1 4/10 — 0	C o	1 5/10 — 0
29 janvier 1925	27	Mou... (R.)	C o	1 1/10 — 0	—	—	C o	1 5/10 — 0
4 février 1928	28	Naz... (N.)	C o	1 1/10 — 0	—	—	—	—
23 mai 1928	29	Nev... (C.)	C o	1 1/10 — 0	—	—	C o	1 5/10 — 0
4 ^e juin 1928	30	No... (Y.)	C o	1 1/10 — 0	—	—	C o	1 5/10 — 0
11 septembre 1927	31	Nu... (A.)	C o	1 1/10 — 0	C o	1 4/10 — 0	—	—
1 ^e août 1928	32	Pr... (J.)	C o	1 1/10 — 0	—	—	C o	1 5/10 — 0
16 mars 1926	33	Pat... (L.)	C o	—	—	—	—	—
16 mars 1926	34	Pat... (R.)	C o	—	—	—	—	—
23 mai 1928	35	Pat... (L.)	C o	1 4/10 — 0	C o	1 1/10 — 0	C o	1 5/10 — 0
26 juin 1927	36	Sar... (C.)	C o	1 1/10 — 0	—	—	—	—
18 avril 1927	37	Sav... (M.)	C o	1 4/10 — 0	—	—	—	—
14 mai 1926	38	Vas... (P.)	C o	—	—	—	—	—
15 février 1928	39	Will... (A.)	C o	1 4/10 — 0	—	—	C o	1 5/10 — 0
8 octobre 1928	40	Pal... (M.)	—	—	—	—	C o	1 5/10 — 0
29 juin 1925	41	Att... (R.)	—	—	—	—	C o	1 5/10 — 0
5 avril 1928	42	Ali... (M.)	—	—	—	—	C o	1 5/10 — 0

Total des réactions 42. Réaction positive : 0 ; négatives : 42.
Réactions négatives. Cuti : 75 ; 1 4/10 : 30 ; 1 5/10 : 47 ; 1 un : 49.

nous avons employées : en effet, les liens entre la dose d'antigène introduite et la précocité d'apparition d'une part, l'intensité d'autre part des réactions tuberculiniques, sur lesquels nous avons beaucoup insisté autrefois avec MM. Henri Bonnet, Paraf et Dautrebande, viennent d'être retrouvés, dans l'ensemble, par MM. Boquet, Nègre et Valtis (1) à propos du BCG injecté au cobaye.

En dernier lieu, nous devons indiquer que nos études ne nous ont pas encore permis de mettre en évidence la date d'apparition exacte de l'allergie tuberculinique chez les enfants vaccinés. Nous pouvons affirmer seulement que cette apparition est, le plus souvent, précoce : sur 5 enfants de moins de deux mois, la réaction fut cinq fois positive ; chez un enfant de moins de trois mois, même réponse positive ; chez 17 enfants de moins de dix mois, nous comptions 17 réactions positives. Nous poursuivons actuellement des recherches pour préciser la date et le mode d'établissement de la sensibilité tuberculinique chez l'enfant vacciné par le BCG.

* * *

Cette étude de la sensibilité cutanée à la tuberculine chez les enfants vaccinés par le BCG par ingestion, peu après la naissance, et mis à l'abri de toute contamination tuberculeuse, montre que la presque unanimité des enfants vaccinés réagissent à la tuberculine dans les conditions où nous avons pratiqué les épreuves cutanées. Elle met en évidence la précocité avec laquelle apparaît cette sensibilité tuberculinique, le degré de cette sensibilité qui est, dans l'ensemble, moins intense que celle que l'on observe chez les enfants infectés naturellement par le bacille de Koch ; la diminution, déjà au cours de la première année, et surtout plus tard, de cette sensibilité ; enfin son extrême atténuation, — voire sa disparition (ce dernier fait reste à démontrer) — chez un certain nombre d'enfants après l'âge de deux ans.

(1) MM. BOQUET, NÈGRE et VALTIS, Sur le caractère de la sensibilité tuberculinique conférée au cobaye par des doses faibles de bacille bilié de Calmette et Guérin. *C. R. Soc. Biologie*, 19 octobre 1929.

CUTI-RÉACTIONS TUBERCULINIQUES ET VACCINATIONS
PAR INJECTION DE BCG EN TRYSIL (NORVÈGE)
1927-1929.

Par O. SCHEEL (Oslo), R. SCHULTZ-HAUDT (Trysil) et T. SKAAR (Oslo).

D'août 1927 jusqu'à novembre 1929, plusieurs médecins et étudiants en médecine ont entrepris avec nous cinq expéditions en Trysil. Nous y avons soumis à l'épreuve de la cuti-réaction tuberculinique, une ou plusieurs fois, au total 2.553 sujets sains et, parmi ces derniers, nous avons vacciné par injection de BCG 1.150 sujets, une à quatre fois chacun. En 1927, les cuti-réactions furent contrôlées trois fois, et l'épreuve fut répétée lorsque le résultat était négatif ou douteux. En 1928 et 1929, nous nous sommes contentés généralement d'une seule cuti-réaction par scarification, dont le résultat fut contrôlé après quarante-huit heures.

Constance de l'allergie.

Chez 337 sujets, enfants et adultes, antérieurement soumis à la cuti-réaction, et qui n'avaient pas été vaccinés au BCG, nous avons, en 1928 et en août 1929, répété la cuti-réaction. 289 de ceux-ci avaient été antérieurement éprouvés une seule fois; 48 l'avaient été deux ou trois fois.

317 sujets, chez lesquels une épreuve antérieure avait fourni une réaction positive, présentèrent plus tard une cuti-réaction également positive. Chez la plupart la cuti-réaction avait gardé la même intensité; chez d'autres elle avait augmenté; rarement elle avait diminué. Sur les 48 sujets qui avaient déjà eu deux ou trois fois une cuti positive, celle-ci persista chez 47.

Chez 9 sujets l'allergie avait disparu. Mais leur réaction avait été des plus faibles: l'induration était, chez 8 de 2 millimètres; chez 1 de 3 millimètres. L'un d'eux était, en 1928, négatif à la première épreuve, positif à une seconde et négatif à la troisième.

Chez 6 la cuti-réaction se montra toujours négative.

5 sujets à réaction négative réagirent faiblement plus tard, avec une induration de 2, 2, 3, 5 et 5 millimètres. Pour les deux derniers cas, il s'agit peut-être d'une primo-infection récente.

Il ressort donc qu'une cuti-réaction franchement positive (avec induration de 3 millimètres ou davantage après quarante-huit heures) est restée toujours positive, sauf dans une seule exception. Une cuti faiblement positive (induration de 2 ou 1 millimètre) peut disparaître, si l'on s'en tient à une seule épreuve; mais, comme on le sait, une deuxième épreuve peut, en de tels cas, donner une réaction positive. En somme, on peut dire que *l'allergie, dans l'espace de temps d'une à deux années, est constante ou presque constante.*

FRÉQUENCE DE L'ALLERGIE, DES INFILTRATIONS ET DES ABCÈS CONSÉCUTIFS À LA VACCINATION BCG.

Notre matériel comprend 598 vaccinations BCG pratiquées d'août 1927 à août 1929; la dernière révision fut faite en novembre 1929. Relativement à la technique employée, les vaccinations se partagent en trois groupes suivant qu'elles ont été faites (1) en août 1927 et août 1928 (2), en novembre 1928 ou en août 1929 (3).

Les infiltrations cutanées à l'endroit de l'injection du vaccin

(1) En 1927 et août 1928 nous avons injecté le vaccin dans le tissu sous-cutané. La dose de BCG était, pour 154 vaccinations en 1927, en général 0 milligr. 05; pour 756 vaccinations en août 1928, en général 0 milligr. 025; quelquefois 0 milligr. 05. Dans ces deux séries de vaccinations on a bientôt constaté qu'elles n'étaient presque jamais suivies d'abcès, alors que M. Heimbeck en observait chez quelques-unes de ses infirmières vaccinées. La raison de cette différence est dans ce fait que M. Heimbeck avait injecté le vaccin dans la profondeur du tissu cutané (*intradermique*), tandis que nous l'avions injecté *dans le tissu sous-cutané*.

(2) Au mois d'août 1928 nous avons donc modifié notre technique et, pratiquant 13 vaccinations et 226 revaccinations, nous avons injecté le BCG *dans le tissu cutané*, en dirigeant l'aiguille du tissu sous-cutané dans le tissu cutané; quelquefois il s'est produit une papulo-vésicule (comme après une piqûre d'ortie). La dose était toujours 0 milligr. 025 de BCG. Après ces vaccinations, des abcès ont fréquemment apparu, qui ont un peu alarmé les sujets vaccinés, bien qu'on les ait avertis d'avance et qu'on leur eût expliqué que ces abcès sont inoffensifs.

(3) En août 1929 nous avons injecté le vaccin *dans la profondeur du tissu cutané* ou *immédiatement au-dessous du derme*. Nous avons aussi diminué la dose de BCG jusqu'à 0 milligr. 02. Avec cette technique nous avons pratiqué 124 vaccinations et 142 revaccinations.

ont apparu quelquefois immédiatement après, ou quelques jours après la vaccination, le plus souvent après six semaines à trois mois. Leur dimension restait de la grosseur d'un pois pendant des semaines, le plus souvent pendant des mois (jusqu'à six mois, rarement neuf mois). Après un an elles avaient disparu ou laissaient une petite cicatrice ou une décoloration bleuâtre, d'une étendue maximum de 15 millimètres de diamètre. Souvent elles formaient un abcès qui perforait le derme un à trois mois après la vaccination. Sans traitement ces abcès suppuraient de quatorze jours à cinq mois; le plus souvent deux à trois mois. Ils laissaient une cicatrice de 5 à 25 millimètres de largeur. Dans la suite les cicatrices sont devenues un peu moins visibles, ainsi que notre révision de novembre 1929 nous l'a démontré. La perforation peut être prévenue, comme l'a montré M. Heimbeck, par une ou plusieurs ponctions à la seringue. La meilleure thérapeutique de l'abcès perforé est l'héliothérapie ou les radiations ultra-violettes.

Jusqu'en novembre 1928, tous nos sujets furent vaccinés au bras. En août 1929 les femmes furent vaccinées à la cuisse. En novembre 1929 au bras ou à la cuisse, suivant leur désir.

TABLEAU I. — **Cuti-réactions positives.**
Infiltrations et abcès cutanés consécutifs à la vaccination BCG.

VACCINATIONS	NOMBRE des cas revisés	CUTI-RÉACTIONS positives	INFILTRATIONS	ABCÈS
1927-août 1928, injection sous-cutanée	367	114 (31 p. 100)	25 (6,8 p. 100)	2 (0,5 p. 100)
Novembre 1928, injection intradermique.	170	134 (81 p. 100) (de 165)	31 (18 p. 100)	64 (38 p. 100)
Août 1929, injection dans la profondeur du derme	61	31 (53 p. 100) (de 59)	5 (8 p. 100)	6 (10 p. 100)

Le nombre de cuti-réactions positives, d'infiltrations et d'abcès cutanés est indiqué sur le tableau I. Les cuti-réactions après le BCG sont, pour la plupart, faibles ou moyennes; à peu

près 10 p. 100 sont plus fortes, avec une induration de 10 millimètres au plus. Les cuti-réactions positives sont, comme les infiltrations et les abcès, plus fréquentes chez les sujets vaccinés par voie intradermique que chez ceux vaccinés par voie sous-cutanée ; les sujets vaccinés dans la profondeur du derme forment un groupe intermédiaire. La dose de BCG ne peut pas expliquer cette différence ; elle était, en 1927, de 0 milligr. 05 et souvent aussi, en août 1928. En novembre 1928 elle était de 0 milligr. 025 ; en août 1929, de 0 milligr. 02. Il est donc probable que le lieu d'injection joue le plus grand rôle en ce qui concerne la fréquence des cuti-réactions positives, des infiltrations et des abcès cutanés ; plus superficiellement le vaccin est injecté dans la peau, plus fréquentes sont les complications citées.

TABLEAU II. — Relation des infiltrations et des abcès cutanés avec la cuti-réaction positive ou négative après la vaccination BCG.

CUTI-RÉACTION après le BCG	NOMBRE des cas révisés	INFILTRATIONS	ABCÈS
Négative	312	13 (4,2 p. 100)	3 (1 p. 100)
Positive	279	48 (17 p. 100)	64 (23 p. 100)

Le tableau II montre par un autre groupement que les infiltrations et surtout les abcès cutanés surviennent plus fréquemment chez les sujets qui acquièrent une cuti-réaction positive après la vaccination BCG.

On pourrait se demander si la plus grande fréquence des cuti-réactions positives et des complications chez les sujets vaccinés dans le derme signifie que ceux-ci ont acquis une immunité plus intense en comparaison des sujets vaccinés par voie sous-cutanée. Nous n'en savons rien encore ; mais le temps nous l'apprendra peut-être. Sur les 1.150 personnes que nous avons vaccinées en Trysil, 544 ont été vaccinées ou revaccinées par voie sous-cutanée, 606 par voie intradermique et les deux groupes sont contrôlés en permanence.

INFLUENCE DE LA VACCINATION BCG SUR LA MORBIDITÉ TUBERCULEUSE.

Parmi les 2.427 sujets bien portants que nous avons examinés en Trysil depuis 1927 jusqu'en août 1929, au total

20 cas de maladies tuberculeuses ont pu être relevés dans la suite, à savoir : *tuberculose pulmonaire*, 7 cas (un mort), *méningite tuberculeuse* 2 (morts), *pleurésie primaire* 6, *péritonite tuberculeuse* 1, *coxite tuberculeuse* 1, *érythème noueux* 3 cas. Ces cas peuvent être groupés de la manière suivante (v. tableau III) :

TABLEAU III. — Cas de tuberculose apparus jusqu'en novembre 1929
parmi les sujets examinés depuis 1927 jusqu'en août 1929.

GROUPE	CUTI-RÉACTION	NOMBRE des sujets suivis	CAS de tuberculose
I. Maladie tuberculeuse antérieure.	+	254	4 (15,7 p. m.)
II. Sans maladie tuberculeuse antérieure	+	923	10 (10,8 p. m.)
III. Sans maladie tuberculeuse antérieure	÷	171	3 (17,5 p. m.)
II-III. Sujets sans maladie tuberculeuse antérieure, non vaccinés.	+ et ÷	1.094	43 (41,9 p. m.)
IV. Vaccinés		1.079	3 (2,8 p. m.)

Le groupe I renferme 254 sujets qui avaient déjà présenté des signes d'infection tuberculeuse avant notre première épreuve de cuti-réaction. Chez 4 d'entre eux des maladies tuberculeuses ont apparu dans la suite, à savoir : 2 *pleurésies*, 1 *péritonite tuberculeuse* et 1 *coxite tuberculeuse*. Ces 4 sujets avaient eu, de quinze jours à deux ans avant notre première épreuve de cuti-réaction, une atteinte d'infection tuberculeuse, à savoir : *érythème noueux* chez 2, *pleurésie douteuse ou probable* chez 2. Chez ces 4 sujets la cuti-réaction était fortement positive, avec une induration de 10 millimètres ou plus, comme on le voit souvent dans les infections tuberculeuses récentes.

Le groupe II comprend 923 sujets sans maladie tuberculeuse antérieure, et qui présentaient au premier examen une cuti-réaction positive. 10 d'entre eux furent atteints, dans la suite, de maladies tuberculeuses : 7 de *tuberculose pulmonaire*, 2 de *pleurésie*, 1 de *méningite*. 6 d'entre eux avaient de six à quatorze ans ; 2 de seize à dix-huit ans ; 2 étaient plus âgés.

Le groupe III comprend 171 sujets à cuti-réaction négative. Il a compté dans la suite 3 cas de maladie tuberculeuse, à

savoir : 1 de méningite, 1 de pleurésie et 1 d'érythème noueux. Ces sujets avaient de dix à quatorze ans. Ces 3 cas sont, à notre avis, des néo-infections, et il n'est pas dépourvu d'intérêt de mentionner que nous connaissons la source de contagion pour deux, probablement aussi pour le troisième cas. Le premier, un garçon de dix ans, qui est mort de méningite tuberculeuse le 12 juin 1929, demeurait avec son frère qui avait une cuti-réaction vésiculeuse en août 1928 et qui fut trouvé atteint de tuberculose pulmonaire en automne 1928; il fut éloigné de la maison en mars 1929 et mourut le même jour que son frère. Le deuxième, qui fut atteint de pleurésie, fréquentait une famille tuberculeuse. La troisième, atteinte d'érythème noueux, logeait dans la même maison qu'une amie qui soignait son fiancé tuberculeux.

Le groupe IV comprend 1.079 sujets à cuti-réaction négative et vaccinés au BCG. 3 ont, dans la suite, contracté des maladies tuberculeuses : 2 cas d'érythème noueux et 1 cas de pleurésie. L'âge était, au premier examen, de neuf, onze et vingt ans. Pour tous la source d'infection nous est connue. Le garçon qui fut atteint de pleurésie ne réagissait pas à la tuberculine en août 1928; il demeurait dans sa famille avec son frère qui, à la même époque, réagissait fortement à la tuberculine, avec des vésicules, et qui présentait des signes évidents de tuberculose pulmonaire en juillet 1929, lorsque notre garçon est, lui aussi, tombé malade. Les deux qui furent atteints d'érythème noueux avaient fréquenté une famille tuberculeuse du voisinage. Ces trois sujets, qui ont contracté des maladies tuberculeuses, avaient été vaccinés par voie sous-cutanée; la dose était chez l'un de 0 milligr. 025 de BCG; chez les deux autres de 0 milligr. 05. Nous avons examiné 2 de ces cas, une pleurésie et un érythème noueux, neuf et douze mois après le début de leur maladie; ils avaient tous deux une réaction tuberculinique vésiculeuse avec induration de 15 millimètres, comme il arrive souvent dans les infections récentes.

Un de ces cas (érythème noueux), chez une femme âgée de vingt ans, est apparu trente jours après la vaccination, probablement avant que l'immunité post-vaccinale ait eu le temps d'atteindre son maximum. Peut-être le pourcentage des maladies tuberculeuses devrait-il donc être évalué à 1,9 p. 1.000

chez les vaccinés (groupe IV); à 23,4 p. 1.000 chez les négatifs, non vaccinés (groupe III), et à 12,8 p. 1.000 dans les groupes II et III.

L'évaluation du pourcentage dans ces quatre groupes ne peut pas avoir une valeur absolue, d'abord parce que le nombre des cas est trop restreint, puis parce que la période d'observation des sujets varie de deux mois et demi à vingt-sept mois (les plus anciens ayant été examinés en août 1927, les plus récents en août 1929). Mais comme les différents groupes se répartissent à peu près de la même manière pour les différentes années, on peut calculer un pourcentage brut qui permet une comparaison approximative entre les sujets vaccinés et les sujets non vaccinés. Nous trouvons ainsi, pour les 1.079 sujets vaccinés, une morbidité tuberculeuse de 2,8 p. 1.000, ou, si nous ne comptons que les 2 cas, 1,9 p. 1.000. *La morbidité est bien plus basse que dans tous les autres groupes, où elle varie de 10,8 à 17,5 (ou 23,4) p. 1.000.* Si nous ne considérons que les deux groupes principaux, les vaccinés (1.079 cas, morbidité tuberculeuse 2,8 p. 1.000) et les non vaccinés, sans maladie tuberculeuse antérieure (1.094 cas, morbidité tuberculeuse 11,9 p. 1.000), nous trouvons une différence entre les deux de 9,1 p. 1.000. Pour être concluante au point de vue de la statistique, il faut que cette différence soit au moins trois fois plus grande que « l'erreur possible » :

$$\sqrt{\frac{2,8 \times 9,7,2}{1.079} + \frac{11,9 \times 988,1}{1.094}} = 3,65.$$

$3,65 \times 0,6745 = 2,462$ = erreur probable. 3 fois celle-ci = 7,4, ce qui est inférieur à la différence 9,1. Il faut donc considérer la différence comme réelle, en dehors de toute influence du hasard.

Comme on le voit sur le tableau III, la morbidité tuberculeuse n'est pas beaucoup plus élevée chez les sujets à cuti-réaction négative, *non vaccinés* (groupe III), que chez les sujets à cuti-réaction positive, sans maladie tuberculeuse antérieure (groupe II). Le résultat est donc tout autre que chez les infirmières de M. Heimbeck, parmi lesquelles les sujets à cuti-réaction négative furent surtout frappés par la tuberculose. Cette différence s'explique par trois raisons : d'abord l'âge. Les

infirmières de M. Heimbeck avaient environ vingt ans. Parmi nos 10 malades du groupe II, 6 avaient de sept à quatorze ans; 2 de seize à dix-huit ans. Ils sont donc plus récemment infectés que les sujets plus âgés. Ensuite les infirmières à cuti-réaction positive sont en général plus éloignées de leur première infection; les infections tuberculeuses à pronostic grave ont eu le temps de se manifester et les jeunes filles manifestement atteintes de tuberculose ne sont pas admises à Ullevaal. L'école d'infirmières d'Ullevaal reçoit plutôt des jeunes filles dont l'infection tuberculeuse antérieure a été bénigne et immunisante. D'autre part, si nous avions, en Trysil, soumis tous nos sujets à cuti-réaction positive à un examen clinique, nous aurions peut-être trouvé des cas de tuberculose latente ou initiale. De tels cas ont été probablement écartés des sujets de M. Heimbeck, puisque ses élèves infirmières sont examinées par un médecin avant d'être admises à l'école. La troisième raison est la plus importante. Les infirmières de M. Heimbeck à cuti-réaction négative sont exposées, à l'hôpital d'Ullevaal, à une contamination beaucoup plus intense que les jeunes sujets à cuti-réaction négative en Trysil. Donc, il ressort de la différence des matériaux qui ont servi aux recherches de M. Heimbeck et aux nôtres que nos sujets à cuti-réaction positive sont plus exposés aux maladies tuberculeuses, et que nos sujets à cuti-réaction négative y sont moins exposés que ceux examinés par M. Heimbeck.

Conclusions.

1° L'allergie tuberculinique chez les sujets qui la présentent reste constante ou presque constante pendant un espace de temps de une à deux années;

2° Les cuti-réactions positives consécutives à la vaccination BCG sont, comme les infiltrations et les abcès cutanés, plus fréquentes lorsque l'injection du vaccin est effectuée *dans le derme* (surtout superficiellement dans le derme) que *dans le tissu sous-cutané*.

3° Les vaccinations BCG pratiquées en Trysil ont eu une action manifestement immunisante. Le pourcentage brut des maladies tuberculeuses pendant une à deux années a été, pour

1.079 sujets vaccinés, 2,8 p. 1.000 (3 cas, ou plutôt 2 cas), alors que pour 1.094 sujets non vaccinés, sans maladie tuberculeuse antérieure, à cuti-réaction positive ou négative, il s'est élevé à 11,9 p. 1.000 (13 cas, ou plutôt 14 cas).

DOCUMENTS

**Maladies tuberculeuses en Trysil jusqu'en novembre 1929
parmi les sujets soumis à l'épreuve de cuti-réaction
tuberculinique.!**

I. Cuti-réaction positive (maladie tuberculeuse antérieure).

SEXE	AGE (ANS)	PREMIÈRE cuti-réaction	INDURATION de la réaction	MALADIE TUBERCULEUSE antérieure	MALADIE TUBERCULEUSE ultérieure
M.	14	Août 1928.	12 mm., vésic.	Erythème noueux, 14 jours avant la cuti-réaction	Péritonite tuberculeuse au commencement de novembre 1928.
M.	17	Août 1928.	15 mm.	1926, pleurésie douteuse.	Pleurésie le 9 février 1929.
F.	18	Août 1928.	10 mm.	1927, pleurésie.	Pleurésie le 9 juin 1929.
F.	19	Août 1927.	10 mm.	1927, érythème noueux.	Coxite tuberculeuse, mars 1928.

II. Cuti-réaction positive (sans maladie tuberculeuse antérieure).

SEXE	AGE (ANS)	PREMIÈRE cuti-réaction	INDURATION de la réaction	MALADIE TUBERCULEUSE ultérieure
F.	7	Août 1927.	14 mm., vésic.	Méningite tuberculeuse le 9 jan- vier 1928.
F.	10	Août 1927.	10 mm.	Tuberculose pulmonaire le 15 mai 1929.
M.	12	Août 1927.	3 mm.	Tuberculose pulmonaire le 10 avril 1928.
M.	13	Août 1927.	5 mm.	Pleurésie le 5 décembre 1927.
M.	13	Août 1928.	12 mm., vésic.	Tuberculose pulmonaire, juillet 1928.
M.	14	Août 1928.	5 mm., vésic.	Tuberculose pulmonaire, au- tomne 1928, mort le 12 juin 1929.
M.	16	Août 1927.	8 mm.	Pleurésie le 15 juin 1929.
F.	18	Août 1928.	15 mm.	Catarrhe pulmonaire le 25 avril 1929.
M.	27	Août 1928.	5 mm.	Catarrhe pulmonaire le 27 dé- cembre 1928.
F.	41	Août 1928.	4 mm.	Tuberculose pulmonaire, au- tomne 1928.

III. *Cuti-réaction négative (sans maladie tuberculeuse antérieure).*

SEXÉ	AGE (ANS)	PREMIÈRE cuti-réaction	MALADIE TUBERCULEUSE ultérieure	SOURCE D'INFECTION
M.	10	Août 1928.	Mort de méningite tuberculeuse le 12 juin 1929.	Frère, tuberculose pulmonaire depuis l'automne 1928.
F.	11	Août 1927.	Pleurésie le 2 juillet 1929.	Fréquenté une famille tuberculeuse.
F.	14	Juin 1929.	Erythème noueux le 1 ^{er} juillet 1929.	Dans la même maison, une amie qui soigne un fiancé tuberculeux.

IV. *Vaccinés.*

SEXÉ	AGE (ANS)	PREMIÈRE cuti-réaction	MALADIE tuberculeuse ultérieure	CUTI-RÉACTION	SOURCE d'infection
M.	9	Août 1928. Vacciné août 1928, dose : 0 milligr. 05.	Pleurésie juillet 1929.	Août 1929, positive, induration 15 mm., vésic.	Frère, cuti-réaction positive, août 1928, tuberculose pulmonaire, juillet 1929.
F.	11	Août 1928. Vaccinée août 1928, dose : 0 milligr. 025.	Erythème noueux novembre 1928.	Août 1929, positive, induration 15 mm., vésic.	Fréquenté famille tuberculeuse.
F.	20	Août 1928. Vaccinée le 20 août 1928, dose : 0 milligr. 05.	Erythème noueux le 20 septembre 1928.	Pas d'épreuve ultérieure.	Fréquenté famille tuberculeuse.

SUR LES PROPRIÉTÉS PATHOGÈNES ET VACCINANTES DU BCG

(DEUXIÈME NOTE)

par le professeur B. ELBERT et le Dr S. GELBERG.

(Institut de microbiologie, Minsk, Russie blanche.)

A. — SUR LA VIRULENCE DU BCG.

Comme suite à notre précédent travail sur ce sujet, nous avons poursuivi :

1^o L'observation des cobayes antérieurement inoculés avec des doses massives de BCG par différentes voies;

2^o Celle des lapins inoculés par voie intracranienne (sous-dure-mérienne) avec le BCG ;

3^o Celle de moutons inoculés avec de fortes doses de BCG.

I. — Nous avons pratiqué, après des périodes d'observation s'étendant de huit mois à deux ans, l'autopsie de 25 cobayes qui avaient été vaccinés avec les doses et par l'une des voies indiquées ci-après :

25 milligrammes de BCG par voie intracardiaque.

50 milligrammes de BCG par voie intrapéritonéale.

100 milligrammes de BCG par voie sous-cutanée.

140 milligrammes de BCG par voie *per os* ;

ou qui avaient subi le blocage du système réticulo-endothélial par extirpation préalable de la rate, et qui avaient ensuite reçu dans le péritoine 50 milligrammes de BCG.

Ces autopsies ont montré qu'aux doses indiquées, introduites par n'importe quelle voie, excepté *per os*, le BCG crée des lésions spécifiques encore décelables jusqu'au huitième mois, et qui régressent sans apporter aucun trouble dans l'état de santé ni dans le développement des animaux.

Ces lésions spécifiques, qu'on peut retrouver jusqu'après un an et demi et deux ans, surtout dans les poumons à la suite des inoculations intracardiaques, sont caractérisées par un tissu cicatriciel entourant des nodules calcifiés. La réinoculation de ces lésions aux cobayes neufs reste sans résultat.

Dans un seul cas nous avons trouvé des lésions de tuberculose généralisée chez un cobaye autopsié dix-sept mois après qu'il avait été inoculé par voie sous-cutanée avec 100 milligrammes de BCG. Il nous paraît certain qu'il s'agit là d'une infection accidentelle par des bacilles virulents.

II. — L'inoculation sous-dure-mérienne de 10 milligrammes de BCG aux lapins provoque des lésions nodulaires dispersées à la surface des méninges cérébrales, autour du lieu d'injection. Ces nodules sont constitués par des cellules épithélioïdes et géantes qui disparaissent spontanément et qui ne se retrouvent plus après neuf à onze mois.

III. — Nous avons observé pendant deux ans quatre moutons auxquels avaient été injectées, à plusieurs reprises, de fortes doses de BCG (de 50 à 300 milligrammes). Ils n'ont présenté aucun trouble dans leur état général. L'autopsie de l'un d'eux, pratiquée à l'expiration du délai de deux années, a fait constater l'existence, au voisinage immédiat du point d'inoculation, d'un abcès encapsulé contenant des bacilles acido-résistants. Les viscères étaient histologiquement intacts et les inoculations des divers organes au cobaye sont restées négatives.

Dans nos expériences sur les cobayes, les lapins et les moutons, la souche BCG, même inoculée à doses énormes, s'est montrée incapable de provoquer des lésions tuberculeuses progressives. Elle n'a pu déterminer que des lésions locales bénignes, spontanément curables et qui n'altéraient en rien la santé ni le développement physiologique des animaux.

B. — SUR LA FIXITÉ DES CARACTÈRES DU BCG.

En vue d'établir s'il est possible d'exalter la virulence du BCG, nous avons étudié :

1° La virulence pour le cobaye de 10 cultures de BCG obtenues de dix passages successifs d'une souche originelle par l'organisme du cobaye, et la virulence de 15 autres cultures égale-

ment obtenues de dix passages successifs, mais après des temps de séjour plus prolongés (dix à trois cents jours) dans l'organisme de cobayes ou de lapins;

2° La virulence pour le cobaye des tissus provenant de foyers encapsulés ou d'abcès formés au voisinage du point d'inoculation du BCG à des moutons, et dont il n'avait pas été possible d'obtenir des cultures;

3° L'effet des passages successifs par inoculation intratesticulaire du BCG au cobaye et au lapin (pour vérifier la thèse de S. A. Pétroff);

4° La virulence pour le cobaye des divers types de colonies (R. S. et O.) provenant de la dissociation du BCG et des cultures de 1, 2 et 4 passages.

Les résultats de nos expériences peuvent être ainsi résumés :

Jusqu'à cent jours et, dans un cas, trois cents jours après l'inoculation intrapéritonéale de fortes doses de BCG (50 milligrammes), nous avons pu obtenir sur milieu de Pétroff des cultures en partant d'abcès locaux de l'épipoon ou du péritoine pariétal, ou de la capsule testiculaire.

L'injection intrapéritonéale de 50 milligrammes, ou intratesticulaire de 10 milligrammes de cultures de BCG isolées de 10 passages successifs par l'organisme du cobaye, ne provoquent qu'une légère chute de poids pendant les deux ou trois semaines qui suivent l'inoculation. On n'a jamais observé, dans ces conditions, de mort par tuberculose.

Les seules lésions constatées dans les autopsies faites entre sept et trois cent cinquante jours après l'inoculation intrapéritonéale étaient, soit des petits abcès de l'épipoon ou du péritoine pariétal, ou de la capsule testiculaire, soit des petits nodules isolés sur le foie, le diaphragme et plus rarement la rate.

Les cultures des passages les plus nombreux déterminent des lésions légèrement plus étendues, mais toujours à caractère bénin, régressives, et non réinoculables aux cobayes neufs.

Histologiquement, ces nodules ou abcès sont identiques à ceux que produisent les mêmes doses de la souche originelle de BCG : amas de leucocytes à noyaux polymorphes, absence de lésions caséuses, tissu de granulation vascularisé évoluant vers la transformation fibreuse totale.

35 cobayes inoculés par voie intraperitoneale avec des bacilles BCG ayant séjourné respectivement neuf, onze, seize et demi et dix-neuf mois dans des foyers locaux ou dans des abcès du tissu cellulaire sous-cutané de moutons, ou quatre et sept mois dans des foyers de réinoculation chez des moutons, n'ont présenté, au cours de seize mois d'observation, aucun incident pathologique ni aucun trouble physiologique.

Ceux qui ont été autopsiés entre dix et quatre cent cinquante jours après l'inoculation présentaient, seulement pour les premiers, de très petits nodules isolés sur l'épiploon, le foie ou la rate, semblables à ceux que l'on observe à la suite de l'inoculation directe du BCG. Les derniers n'avaient plus aucune lésion visible et les bacilles demeurés jusqu'à dix-neuf mois dans l'organisme, puis réinoculés, se montraient inoffensifs.

Les essais d'exaltation de la virulence du BCG par 5 passages successifs par le testicule chez les lapins et chez les cobayes n'ont fourni aucun résultat. L'inoculation intratesticulaire de 10 milligrammes entraîne la formation d'un abcès; mais au deuxième passage les lésions sont déjà moindres et on n'en trouve plus du tout dans les passages ultérieurs.

En suivant la technique de S. A. Pétroff, on a réussi à dissocier du BCG des colonies des types R, S et O décrites par cet auteur et aussi plus récemment par Piasecka-Zeyland. Mais l'inoculation séparée de chacun de ces types aux cobayes neufs (50 milligrammes par voie péritonéale) n'a jamais produit de lésions différentes de celles que produit la culture originelle de BCG.

On doit donc conclure que la souche BCG possède des caractères stables et que, soit par des passages d'animal sensible à animal sensible, soit par inoculations intratesticulaires en séries, soit par cultures sur divers milieux nutritifs artificiels, il n'a pas été possible d'obtenir un renforcement de sa virulence.

C. — SUR LES PROPRIÉTÉS IMMUNISANTES DU BCG.

Pour étudier le pouvoir protecteur du BCG nous avons essayé d'immuniser des cobayes soit par voie sous-cutanée, soit, — et exclusivement des jeunes — par voie buccale, des moulons et des singes par voie sous-cutanée.

Les cobayes (2 séries de 20) vaccinés par inoculation sous-cutanée de 20, 25 milligrammes de BCG, ont été éprouvés après deux à trois mois par inoculation, également sous-cutanée, de 1 milligramme de bacilles virulents (bovine Vallée).

La durée moyenne de survie des cobayes vaccinés a été de cent quatre-vingt-deux jours (première série) et de cent quatre-vingt-cinq jours (deuxième série); alors que celle des cobayes témoins n'a été que de cent quatre jours (première série) et quatre-vingt-treize jours (deuxième série).

Les expériences de vaccination des cobayes *per os*, avec épreuve, également *per os*, par deux ingestions, chacune de 1 milligramme de bacilles bovins virulents, n'ont fourni à peu près aucune différence entre vaccinés et témoins.

Six moutons ont été vaccinés deux fois à quarante-cinq jours ou deux mois d'intervalle avec 50 à 100 milligrammes de BCG par voie sous-cutanée et éprouvés, en même temps que des témoins, par injection intraveineuse de 5 milligrammes de culture virulente (bovine Vallée). Quatre d'entre eux restent bien portants après quatorze mois et demi d'observation; deux ont été autopsiés : l'un, après quatre mois, avait succombé à une septicémie, l'autre, après huit mois, fut sacrifié. Tous deux présentaient des nodules denses et multiples dans les poumons; le second en avait aussi sur la rate. L'inoculation de ces lésions aux cobayes a provoqué chez ces animaux une tuberculose généralisée.

Les 7 moutons témoins ont succombé dans les délais de quinze à quarante-sept jours à la tuberculose miliaire des poumons.

Un singe, qui avait reçu 50 milligrammes de BCG sous la peau, fut éprouvé par inoculation sous-cutanée de 0 milligr. 15 de bacilles bovins (environ 6 millions de bacilles). Il est encore vivant et bien portant après huit mois et demi d'observation.

Un singe témoin, qui n'a reçu que la moitié de la dose de bacilles virulents employée pour le précédent, est mort de tuberculose après cinq mois.

Sans porter dès à présent un jugement définitif sur les propriétés immunisantes du BCG, on peut affirmer que l'inoculation de cette souche crée un état de résistance à l'infection arti-

ficielle virulente. Cet état de résistance est plus manifeste chez les moutons que chez les cobayes, puisque ces derniers ne présentent qu'une survie appréciable, tandis que les moutons vaccinés se montrent capables de supporter impunément une infection intraveineuse d'épreuve qui est rapidement mortelle pour les témoins.

EFFET DE L'INGESTION DU BACILLE BILIÉ BCG CHEZ LE COBAYE NOUVEAU-NÉ

par P. REMLINGER et J. BAILLY.

Nous avons, à l'Institut Pasteur de Tanger, éprouvé de grandes difficultés à vacciner le cobaye contre la tuberculose à l'aide du BCG (1). Conséquence de l'extrême sensibilité de l'animal au bacille de Koch ou nouvel exemple des paradoxes dont la tuberculose est coutumière, quelles qu'aient été les voies d'introduction du bacille (digestive, sous-cutanée, intradermique, nasale, frictions sur la peau rasée...), les doses employées (de 2 milligrammes à 90 centigrammes), les modalités de l'administration (dose unique massive, doses moyennes inoculées un petit nombre de fois, doses minimes souvent répétées), le jour moyen de la mort s'est presque toujours trouvé sensiblement le même chez les vaccinés et chez les témoins. Dans ces recherches (qui ont porté sur plus de 500 animaux), une série d'expériences a fourni toutefois des résultats nettement favorables. C'est celle qui a trait à l'immunisation de cobayes âgés de moins de dix jours par le BCG, administré par voie buccale. On conçoit, sans qu'il soit nécessaire d'insister, l'importance toute particulière de cette constatation.

EXPÉRIENCE I. — *Essai d'immunisation de jeunes cobayes âgés de moins de dix jours par le BCG administré par voie buccale. Epreuve digestive sévère chez les vaccinés et chez un nombre égal de témoins. Résultats nettement favorables aux vaccinés.*

Des cobayes femelles en état de gestation sont isolées. Aussitôt après l'accouchement, l'un des petits, destiné à recevoir du BCG, est pourvu d'une marque artificielle alors que l'autre, devant servir de témoin, est laissé tel quel. Dans le cours des dix premiers jours, les jeunes sujets marqués

(1) P. REMLINGER et J. BAILLY, Sur les difficultés de la vaccination du cobaye par le bacille bilié de Calmette-Guérin. *Soc. de Biologie*, 17 novembre 1928, p. 1557-1558.

ingèrent, à l'aide de la pipette, des quantités variables de BCG, émulsionné dans 1 cent. cube de lait, puis sont remis avec leur mère et leur frère témoin de manière à partager avec celui-ci toutes les conditions de l'existence. Trois mois après l'administration du BCG, tous les traités, ainsi que les témoins, sont soumis à la même infection : ingestion trois fois répétée de 1/10 de milligramme de bacilles tuberculeux bovins émulsionnés dans 1 cent. cube de lait. Les animaux ont été observés un an et demi et les constatations suivantes ont été faites :

Cobaye n° 1. — Ingestion de 1 centigramme de BCG.

Demeuré bien portant. Est sacrifié quatre cent soixante-huit jours après l'épreuve. Ne présente aucune lésion qu'une adénite fibreuse des ganglions préthoraciques et trachéo-bronchiques. Rien aux poumons, au foie ou à la rate. En somme, tuberculose très discrète, localisée à un seul groupe ganglionnaire.

Témoin. — Resté vivant et bien portant.

Cobaye n° 2. — Ingestion de 2 centigrammes de BCG.

Demeuré vivant et bien portant.

Témoin. — Mort soixante-huit jours après l'épreuve de tuberculose massive généralisée à tous les organes et à tous les ganglions.

Cobaye n° 3. — Ingestion de 3 centigrammes de BCG.

Demeuré vivant et bien portant.

Témoin. — Est trouvé mort le quatre cent quatre-vingt-huitième jour après l'épreuve. On ne trouve à l'autopsie aucune lésion tuberculeuse.

Cobaye n° 4. — Ingestion de 4 centigrammes de BCG.

Demeuré bien portant. Sacrifié le six cent quatorzième jour après l'épreuve. Ne présentait aucune lésion tuberculeuse.

Témoin. — Mort de tuberculose massive, généralisée aux organes et aux ganglions, cent trente-six jours après l'épreuve.

Cobaye n° 5. — Ingestion de 3 centigrammes de BCG.

Demeuré bien portant.

Témoin. — Mort, soixante jours après l'épreuve, de tuberculose massive généralisée.

Cobaye n° 6. — Ingestion de 5 centigrammes de BCG.

Sacrifié quatre cent soixante-dix-huit jours après l'épreuve; ne présentait aucune lésion tuberculeuse.

Témoin. — Mort cent quatre-vingt-quinze jours après l'épreuve. Se cachectisait depuis longtemps. Les ganglions mésentériques pariétaux sont du volume d'un haricot et présentent des tubercules caséux; les viscéraux sont gros comme des pois et caséux également pour la plupart. Les organes sont indemnes. Cette tuberculose localisée aux ganglions mésentériques paraît avoir déterminé la cachexie mortelle.

Cobaye n° 7. — Ingestion de 6 centigrammes de BCG.

Sacrifié quatre cent soixante-dix-huit jours après l'épreuve, ne présentait aucune lésion tuberculeuse.

Témoin. — Mort quatre vingt-douze jours après l'épreuve de tuberculose massive généralisée.

Cobaye n° 8. — Ingestion de 70 centigrammes de BCG.

Mort cent vingt-cinq jours après l'épreuve de tuberculose massive généralisée.

Témoin. — Sacrifié quatre cent vingt-neuf jours après l'épreuve. Les ganglions cervicaux et mésentériques sont tuberculés. Rate tuberculeuse. Rien au foie et aux poumons.

Cobaye n° 9. — Ingestion de 90 centigrammes de BCG.

Mort cent cinquante-trois jours après l'épreuve de tuberculose massive généralisée.

Témoin. — Mort quatre-vingt-douze jours après l'épreuve de tuberculose massive généralisée.

Ainsi, sur 9 cobayes de moins de dix jours ayant reçu par la bouche des quantités variables de BCG, et éprouvés trois mois plus tard par voie buccale à l'aide de doses moyennes de bacilles bovins, 3 ont contracté la tuberculose et 6 sont demeurés indemnes. Les 9 cobayes témoins, frères des précédents, soumis à la même épreuve alors qu'ils n'avaient jamais reçu de BCG, ont fourni 7 morts de tuberculose et 2 survies. En regard de ce résultat global qui fait ressortir une action protectrice du BCG, il convient cependant de souligner l'observation I où le sujet traité par le BCG a contracté la maladie tandis que le témoin est demeuré indemne, les observations 8 et 9 où les animaux ayant ingéré 70 et 90 centigrammes de BCG n'ont pas offert à l'infection d'épreuve plus de résistance que les témoins.

En présence de ces faits un peu paradoxaux, nous avons procédé à une deuxième expérience.

EXPÉRIENCE II. — Essai d'inmunisation de jeunes cobayes âgés de moins de dix jours par le BCG, administré par voie buccale. Epreuve digestive très sévère et deux fois répétée. Survie beaucoup plus longue chez les vaccinés que chez les témoins.

Des cobayes en état de gestation sont isolées Presque aussitôt après la naissance (septembre et octobre 1928), l'un des petits reçoit, par la bouche, à la pipette, une dose unique de BCG, émulsionnée dans 1 cent. cube d'eau. Son frère est conservé comme témoin. Les deux petits sont laissés à leur mère, en sorte que les conditions d'existence du vacciné et du témoin demeurent parfaitement identiques. Trois mois après l'administration du BCG (décembre 1928 et janvier 1929), les traités et les témoins sont soumis à la même infection : ingestion trois fois renouvelée de 1/10 de milligramme de bacilles tuberculeux bovins émulsionnés dans 1 cent. cube de lait. Les animaux sont soumis à une observation rigoureuse, pesés toutes les semaines... etc. Ces pesées ayant dénoté, pour les témoins comme pour les vaccinés, des augmentations de poids régulières et parfois considérables, nous avons — bien à tort, ainsi que nous en avons acquis la conviction ultérieurement — conçu quelque doute au sujet de la virulence du bacille bovin employé pour l'épreuve et, les 29, 30 et 31 mars, nous avons procédé à une deuxième infection identique à la première. Dans tout le cours des mois de mai et de juin, c'est-à-dire quatre, cinq et six mois après la première épreuve, la différence entre les témoins et les vaccinés, quant à l'état général, était si grande qu'il était possible de distinguer à première vue, et sans

avoir recours à l'étiquette, les deux groupes d'animaux. Par leur maigreur, leur poil piqué et leur attitude en boule, les témoins contrastaient immédiatement avec leurs frères respectifs ayant ingéré le BCG. Par la suite, les différences se sont atténuées peu à peu et la distinction à la simple inspection est devenue impossible. Voici le détail des observations :

Cobaye n° 1. — Ingestion de 1 centigramme de BCG, le 2 septembre.

Eprouvé les 4, 5, 6 décembre, puis les 29, 30, 31 mars. Mort de tuberculose deux cent trois jours après l'épreuve le 25 juin. Mort du témoin le 23 juin au deux cent et unième jour. Différence en faveur du vacciné : deux jours.

Cobaye n° 2. — Ingestion de 3 centigrammes de BCG le 14 septembre.

Eprouvé les 4, 5, 6 décembre puis les 29, 30, 31 mars. Mort le 9 août au deux cent quarante-huitième jour. Mort du témoin le 9 juillet au deux cent dix-septième jour. Différence en faveur du vacciné : trente et un jours.

Cobaye n° 3. — Ingestion de 4 centigrammes de BCG le 16 septembre.

Eprouvé les 4, 5, 6 décembre puis les 29, 30, 31 mars. Mort le 17 septembre au deux cent quatre-vingt-septième jour. Mort du vacciné le 25 juin au deux cent troisième jour. Différence en faveur du vacciné : quatre-vingt-quatre jours.

Cobaye n° 4. — Ingestion de 4 centigrammes de BCG le 27 septembre.

Eprouvé les 4, 5, 6 décembre puis les 29, 30, 31 mars. Mort le 4^e août au deux cent quarantième jour. Mort du témoin le 27 juin au deux cent cinquième jour. Différence en faveur du vacciné : trente-cinq jours.

Cobaye n° 5. — Ingestion de 6 centigrammes de BCG le 3 octobre.

Eprouvé les 5, 6, 7 janvier puis les 29, 30, 31 mars. Mort le 9 septembre au deux cent quarante-septième jour. Mort du témoin le 20 septembre au deux cent cinquante-huitième jour. Différence en faveur du témoin : onze jours.

Cobaye n° 6. — Ingestion de 8 centigrammes de BCG le 19 novembre.

Eprouvé les 5, 6, 7 janvier puis les 29, 30, 31 mars. Mort le 11 septembre au deux cent quarante-neuvième jour. Mort du témoin le 30 mai au cent quarante-sixième jour. Différence en faveur du vacciné : cent trois jours.

Cobaye n° 7. — Ingestion de 9 centigrammes de BCG le 4 novembre.

Eprouvé les 5, 6, 7 janvier puis les 29, 30, 31 mars. Mort le 30 octobre au deux cent quatre-vingt-dix-neuvième jour. Mort du témoin le 24 août au deux cent trente et unième jour. Différence en faveur du vacciné : soixante-huit jours.

Cobaye n° 8. — Ingestion de 10 centigrammes de BCG le 5 novembre.

Eprouvé les 5, 6, 7 janvier puis les 29, 30, 31 mars. Mort le 28 septembre au deux cent soixante-sixième jour. Mort du témoin le 12 juillet au cent quatre-vingt-huitième jour. Différence en faveur du vacciné : soixante-dix-huit jours.

Cobaye n° 9. — Ingestion de 40 centigrammes de BCG le 4 décembre.

Eprouvé les 17, 18, 19 janvier puis les 29, 30, 31 mars. Mort le 15 septembre au deux cent soixante-cinquième jour. Mort du témoin le 15 mai au cent cinquante-deuxième jour. Différence en faveur du vacciné : cent treize jours.

Cobaye n° 10. — Ingestion de 50 centigrammes de BCG le 3 novembre.

Eprouvé les 5, 6, 7 janvier puis les 29, 30, 31 mars. Mort le 13 novembre au trois cent douzième jour. Mort du témoin le 9 avril au quatre-vingt-quatorzième jour. Différence en faveur du vacciné : deux cent dix-huit jours.

Cobaye n° 11. — Ingestion de 60 centigrammes de BCG le 5 novembre.

Eprouvé les 5, 6, 7 janvier puis les 29, 30, 31 mars. Mort le 20 août au deux cent vingt-septième jour. Mort du témoin le 19 juillet au cent quatre-vingt-quinzième jour. Différence en faveur du vacciné : trente deux jours.

Cobaye n° 12. — Ingestion de 70 centigrammes de BCG le 12 décembre.

Eprouvé les 17, 18, 19 janvier puis les 29, 30, 31 mars. Mort le 17 octobre au deux cent quatre-vingt-dix-septième jour. Mort du témoin le 14 juin au cent soixante-douzième jour. Différence en faveur du vacciné : cent vingt-cinq jours.

Cobaye n° 13. — Ingestion de 80 centigrammes de BCG le 12 décembre.

Eprouvé les 17, 18, 19 janvier puis les 29, 30, 31 mars. Mort le 14 juin au cent soixante-douzième jour. Mort du témoin le 5 novembre au trois cent sixième jour. Différence en faveur du témoin : cent quarante-quatre jours.

En résumé, sur 13 expériences, 11 ont donné un résultat favorable, les survies des vaccinés par rapport aux témoins ayant été respectivement de deux, trente et un, trente-deux, trente-cinq, soixante-huit, soixante-dix-huit, quatre-vingt-quatre, cent trois, cent treize, cent vingt-cinq, deux cent dix-huit jours (total : huit cent quatre-vingt-neuf) et 2 seulement un résultat défavorable, les survies des témoins par rapport aux vaccinés ayant été de onze et de cent quarante-quatre jours (total : cent cinquante-cinq). Ces chiffres représentent pour les vaccinés une survie globale de huit cent quatre-vingt-neuf — cent cinquante-cinq = sept cent trente-quatre jours et une survie moyenne de sept cent trente-quatre : onze = soixante-six jours par cobaye. Aux autopsies, les lésions se montraient très sensiblement identiques chez les vaccinés et chez les témoins et aucune particularité ne permettait de supposer que la maladie ait été modifiée dans son évolution par les tentatives d'immunisation. Il est bien certain que la surinfection à laquelle les animaux ont été malencontreusement soumis les 29, 30 et 31 mars n'a pas été étrangère à la sévérité de l'évolution de la maladie. Des résultats plus favorables encore eussent été obtenus sans nul doute s'il avait été procédé à une épreuve unique. Quoi qu'il en soit de ce contretemps, il résulte des faits qui précèdent que chez le cobaye, — animal qui paraît convenir très peu, ainsi que nous l'avons montré, aux recherches relatives à la vaccination contre la tuberculose — des résultats favorables sont cependant obtenus par la voie digestive lorsqu'on opère, dans des conditions identiques à celles qui ont été édictées par M. le professeur Calmette pour la vaccination des enfants nouveau-nés. Il y a là un appoint expérimental intéressant aux nombreux documents cliniques fournis par la pratique de la vaccination en médecine infantile.

ÉTUDE SUR LA SÉRO-FLOCULATION DE VERNES CHEZ LES PRÉMUNIS PAR LE VACCIN BCG

par MM. le professeur J. PARISOT et les Drs H. SALEUR et R. LEVY.

*(Travail du Dispensaire Villemin
et de l'Institut d'Hygiène de Nancy.)*

La mise en pratique toute récente de la vaccination par le BCG (bacille bilié de Calmette-Guérin) offre, à l'heure actuelle, un champ de recherches du plus haut intérêt pour l'étude des modifications qu'est à même de faire subir à l'organisme humain l'infection tuberculeuse.

Cette vaccination, comme il est établi, réalise une imprégnation *avirulente, non nosogène*, de l'organisme. La réalité de cette imprégnation, et aussi son innocuité, ont, au cours d'une longue et méthodique expérimentation, dont les détails sont connus, été démontrés par les auteurs du BCG et leurs élèves (Calmette, Guérin, Nègre, Boquet, etc.). Ces résultats, d'autre part, ont subi l'épreuve de multiples contrôles effectués dans la plupart des pays.

Rappelons, très-succinctement, que la pénétration du vaccin BCG dans l'organisme animal détermine régulièrement, du moins à partir de certaines doses, des accidents qui, suivant la voie d'introduction, sont : tantôt (voie sous-cutanée), des abcès froids locaux; tantôt (voie endo-veineuse), des lésions nodulaires plus ou moins diffuses, entre autres, sur l'épiploon, le péritoine, les viscères (poumons, foie, rate). Mais, dans tous les cas, ces lésions, tant locales que générales, ont ce caractère bien spécial d'être fugaces et intégralement résorbables. Par ailleurs, les animaux ayant reçu du BCG deviennent aptes à réagir à la tuberculine (Calmette, Guérin, P. Nélis). Par ailleurs

(1) Les recherches sur la réaction de Vernes, qui vont suivre, font l'objet d'un chapitre de la *thèse de Doctorat* toute récente du Dr Robert Lévy, élève de l'un de nous. Voir index bibliographique n° 6.

encore, il est possible de déceler, dans leur sérum, la présence d'anticorps spécifiques (Calmette, N. Westenryck) [4].

L'ensemble de ces faits, et d'autres aussi, atteste donc bien l'existence d'une imprégnation ayant les caractères d'une infection spéciale : infection toute passagère, anodine, et parfois même complètement occulte, mais infection réelle au sens biologique du mot, ainsi qu'en témoigne encore la résistance dûment établie des animaux (cobayes, lapins, bovidés, singes anthropoïdes ou pithéciens), vis à-vis de réinfections virulentes, tant expérimentales que spontanées.

La prémunition par le BCG, depuis les premiers essais effectués entre 1921 et 1924 sur 217 enfants nouveau-nés, et entrepris à Paris, d'accord avec M. le professeur Calmette, par MM. B. Weil-Hallé et R. Turpin, est, depuis cette époque, largement entrée en pratique humaine.

Rappelons que deux méthodes de vaccination, qui ont chacune leurs indications, sont aujourd'hui en usage :

1^o L'ingestion, qui s'applique exclusivement aux nouveau-nés (sujets âgés de moins de quinze jours, et, mieux, n'ayant pas dépassé le dixième jour). Actuellement, on fait ingérer à jeun, de deux jours en deux jours tels que les deuxième, quatrième, sixième ou troisième, cinquième, septième, trois doses successives de vaccin, qui représentent au total 30 milligrammes, soit environ 1 milliard 200 millions de corps microbiens.

2^o L'injection hypodermique. Cette méthode s'adresse à tous les sujets qui ont dépassé l'âge d'élection que nous venons de définir, seule époque où l'intestin, tapissé de cellules protoplasmiques, est aisément perméable aux bacilles.

Pour des raisons diverses, ce mode d'administration, dont l'usage pourra un jour être fort étendu, puisque n'étant pas réservé à des catégories d'âge très restreintes, n'a encore reçu que des applications assez peu nombreuses et toujours locales.

Les expériences actuellement connues de prémunitions collectives par voie sous-cutanée sont :

1^o Les essais initiaux de B. Weil-Hallé et R. Turpin (31 nourrissons depuis avril-mai 1924) auxquels nous joindrons les opérations plus récentes de Wallgren (de Göteborg) qui portent sur 33 sujets (octobre 1928).

2^o Les prémunitions entreprises en 1925, à Oslo (Norvège) par J. Heimbeck et O. Scheel sur des adultes. Celles-ci s'appliquèrent d'abord à 89 élèves de l'école d'infirmières de l'hôpital Ullevaal, puis furent ensuite étendues à 1.393 personnes habitant la ville et la campagne environnante.

3^o Nous devons une mention toute spéciale aux opérations conduites, à partir de 1925, dans plusieurs de nos possessions coloniales, et qui portèrent d'abord sur plusieurs centaines d'indigènes : à Madagascar (Girard et Legendre); en Afrique Occidentale (Mathis). Ces vaccinations furent le prélude d'une vaste expérience, actuellement en cours, en Afrique Occidentale et Équatoriale (Grosfillex) qui intéresse toute une fraction des effectifs indigènes appelés à tenir garnison dans la métropole [2].

L'initiative de ces derniers essais sur des sujets appartenant à des races particulièrement sensibles revient à l'Institut Pasteur de Paris.

A Nancy, à partir de mars 1927, nous avons été amenés, d'accord avec M. le professeur Calmette, à entreprendre des vaccinations par voie sous-cutanée sur des sujets d'âges divers (nourrissons, grands enfants et jeunes adolescents). A l'heure actuelle, plus de 400 de ces opérations ont été pratiquées.

Les conditions des vaccinations, les détails de leur technique, les incidents observés, ont été exposés ailleurs (notamment *in Bulletin de l'Académie de Médecine*, n° 24, 12 juin 1928 : J. Parisot et H. Saleu) [3].

Afin de simplifier cette étude et d'avoir des faits plus comparables, nous avons décidé de faire porter les présentes recherches sur un lot de jeunes vaccinés qui, tous, avaient reçu une dose unique et uniforme de *un centième de milligramme* (1/100 de milligramme) de BCG (soit environ 400.000 bacilles). Ultérieurement, nous nous réservons d'examiner le sérum de sujets qui, vu leur âge, ont pu être inoculés à des doses plus élevées. Nous rappelons que, actuellement, le BCG par voie sous-cutanée est administré suivant les règles quantitatives ci-après :

1/100 de milligramme chez les nourrissons et jusqu'à sept ans.

1/50 de milligramme chez les enfants de plus de sept ans.

Afin d'être en mesure de classer rigoureusement les résultats, il nous faut établir les bases médico-sociales de ce travail.

Pour une saine interprétation de ces résultats, comme aussi pour la sécurité des opérations, il était indispensable, préalablement aux recherches entreprises, de pouvoir affirmer l'inexistence de toute infection tuberculeuse spontanée.

Suivant les principes en usage dans les dispensaires de l'O. H. S. de Nancy, les candidats au BCG sont, à trois mois de distance, l'objet d'épreuves tuberculiniques (cuti et intradermo-réactions) dont les résultats sont constatés, successivement, au bout de quarante-huit heures et de huit jours. Ces épreuves, d'autre part, appuient des examens bactériologiques, radiologiques et cliniques, qui doivent concorder et ne rien montrer d'anormal.

Dans le cas où l'on a relevé la présence en cours, ou récente, d'un contact bacillaire familial, les épreuves ci-dessus sont accompagnées d'une « quarantaine » d'isolement (trois à quatre mois); ceci, d'une part, en vue de tenir compte des délais variables de la phase anté-allergique de L. Bernard, Debré, Jacquet, Dautrebande, etc... et afin, d'autre part, d'éviter des contaminations possibles dans le milieu familial, au cours des quelques semaines nécessaires à l'acquisition de l'immunité vaccinale. Cette séparation, suivant les cas, est réalisée, tantôt grâce au placement familial, tantôt par une des modalités du placement surveillé (Préventorium de Flavigny-sur-Moselle, et, pour les nourrissons, Centre d'élevage en commun de Blâmont ou Centre familial de Thorey).

Les prémunis que nous étudions se répartissent comme suit, d'après le recrutement médico-social :

a) Enfants de milieux familiaux *bacillaires* (parents, alliés, commensaux); contacts de cohabitation ou de fréquentation ;

b) Enfants de familles tuberculeuses. Dans ce groupe, dont l'individualisation est aisée à saisir, le contact (parent, allié ou commensal) est atteint de lésions pulmonaires tuberculeuses non ouvertes (donc avec non-élimination contrôlée de bacilles, du moins à l'époque de nos enquêtes). Ce groupe ne se différencie, pratiquement, du précédent que par une discontinuité plus ou moins marquée des contacts contagieux;

c) Enfants de familles *exemptes de tuberculose*. Ce lot est com-

posé, en majorité, d'habitants de deux quartiers ouvriers et populeux de notre cité, particulièrement connus par leur insalubrité. Ces deux quartiers (*quartiers Clodion et Saint-Epvre*) viennent de faire, ou font l'objet d'enquêtes sanitaires très détaillées, au point de vue de leur constitution d'une part, au point de vue de leur mortalité générale, infantile et tuberculeuse, d'autre part.

Nous ne pouvons, pour les enquêtes toutes récentes, que renvoyer à Paul Parisot, Jacques Parisot et Saleur : Étude sur la condition sanitaire et sociale du quartier dit « Clodion », rapport à M. le Maire de la ville de Nancy (février 1929).

Des vaccinations étendues étaient justifiées par le fait que, dans ces milieux, l'index social de tuberculisation, c'est-à-dire la fréquence des réactions tuberculiniques, étudiées exclusivement en dehors des familles bacillaires, y atteint, avant l'adolescence, un taux supérieur à 45 p. 100, donc en majoration sensible sur le même pourcentage dans le reste de l'agglomération (30 p. 100) et surtout dans les îlots sains (J. Parisot et Saleur) [4]. Il était légitime de tenter de développer les moyens de protection que nous possédons parmi la population d'un quartier (quartier Clodion) qui, au cours de ces dernières années encore, accusait une mortalité tuberculeuse supérieure de 82 p. 100 à celle du reste de la ville.

Ceci posé, nous croyons avoir bien établi que nos prémunis, quelle qu'ait été leur condition médico-sociale, étaient, au moment de l'opération vaccinale, certainement indemnes de toute infection tuberculeuse naturelle. D'autre part, des sujets neufs au point de vue bacillaire se trouvaient avoir été soumis à la pénétration *certaine et directe*, dans leur économie, d'une quantité notable (400.000 bacilles) d'éléments vivants et actifs, quoique non nosogènes.

NOS RÉSULTATS.

Les prémunitions par voie sous-cutanée ayant été, comme nous l'avons dit plus haut, mises en train dans les dispensaires de l'O. H. S. de l'agglomération nancéienne (Villemin Central et annexe I) en mars 1927, il n'était naturellement pas possible d'étudier, comparativement à eux-mêmes, pendant

une période assez longue et avec les renouvellements nécessaires (par exemple de mois en mois), un nombre quelque peu élevé de sérum. Mais, d'autre part, les opérations vaccinales se poursuivent régulièrement depuis cette époque.

Nous avons donc dispersé nos recherches et classé des sérum d'individus, évidemment différents, suivant l'ordre d'ancienneté de l'administration du BCG. Cette manière de procéder présente le désavantage des petites dissemblances individuelles dans le pouvoir de flocculation des sérum, dissemblances qui se retrouvent sur des sérum même normaux. On peut penser toutefois que, avec un nombre suffisant de sujets étudiés, et grâce à des moyennes, ces divergences possibles doivent s'atténuer ou même se fondre.

Dans le premier tableau ci-dessous nous donnons le détail des degrés photométriques — à l'appareil de Vernes, Bricq et

ANCIENNÉ de la vaccination	NOMBRE de sérum	SÉRO-FLOCULATIONS	MOYENNE des résultats
1 mois . . .	4	13 + 8 + 9 + 24	+
2 mois . . .	2	19 + 16	13
3 mois . . .	3	5 + 5 + 14	17
4 mois . . .	3	21 + 8 + 33	8
5 mois . . .	9	10 + 11 + 25 + 12 + 7 + 11 + 11 + 14 + 9	20
6 mois . . .	5	10 + 16 + 14 + 12 + 14	12
7 mois . . .	4	15 + 38 + 12 + 20	13
8 mois . . .	2	29 + 13	21
9 mois . . .	1	23	21
10 mois . . .	1	21	23
11 mois . . .	1	11	21
12 mois . . .	2	30 + 14	11
14 mois . . .	2	21 + 19	22
15 mois . . .	3	27 + 14 + 18	20
17 mois . . .	4	18 + 20 + 23 + 12	18
18 mois . . .	3	18 + 33 + 18	23
20 mois . . .	3	9 + 15 + 19	14
21 mois . . .	1	16	16
24 mois . . .	1	15	15
27 mois . . .	1	16	16

Yvon — fournis par l'étude du sérum de 55 prémunis, que nous classons d'après l'ancienneté de leur vaccination (ancienneté allant de un à vingt-sept mois).

Nous obtenons des densités optiques qui oscillent autour d'une moyenne générale de + 21, avec des valeurs isolées

variables, et qui, au surplus, ne dépassent légèrement le chiffre + 30 que dans deux cas.

Il paraît donc bien, dès cet aperçu, que les sérum de sujets ayant reçu du BCG ne se différencient pas de façon appréciable, par leurs propriétés optiques, des sérum de sujets normaux et, d'autre part, que leur pouvoir floculant est très éloigné de celui qui est observé au cours de la généralité des évolutions tuberculeuses.

Si, à aucun moment de l'imprégnation par le BCG, le sérum des prémunis n'accuse les modifications physico-chimiques caractéristiques des évolutions, cela n'implique pas, tant s'en faut, que ne se développent, dans l'organisme de ces sujets, des changements habituellement liés aux processus actifs. L'expérimentation, nous l'avons dit, a démontré l'existence de ces modifications chez l'animal; l'observation et des épreuves biologiques appropriées les mettent en évidence chez l'homme.

A cause de leur très grand intérêt, il nous faut mentionner ici, les toutes récentes observations, à la fois cliniques et anatomiques (accompagnées de contrôles expérimentaux) qu'ont présentées M. L. Bernard, R. Debré et M. Lelong [7]. Elles concernent dix nourrissons prémunis à leur naissance, décédés entre quinze jours et huit mois d'affections non tuberculeuses. Grâce au jeu du dispositif prophylactique en usage à l'hôpital Laënnec (crèche de prévention, œuvre de placement familial), ces sujets, dès leur naissance, avaient été pour la plupart éloignés du milieu familial bacillaire.

Les constatations faites dans ces conditions avaient donc une valeur en quelque sorte expérimentale.

De nombreux cobayes éprouvés par inoculation d'extraits de divers organes (ganglions mésentériques, trachéo-bronchiques, poumons, foie, rate, rein, pie-mère), ne purent être tuberculisés, malgré la découverte, plusieurs fois faite dans ces organes, de bacilles acido-résistants.

Les autopsies de ces sujets, minutieusement pratiquées, avaient été dans tous les cas, sauf un, intégralement négatives. Dans ce seul cas, il fut possible de découvrir, à la racine du mésentère, un petit paquet, bien circonscrit, de ganglions caséux, à l'état de crudité; mais, fait hautement intéressant, ce caséum, qui ne renfermait d'ailleurs que quel-

ques bacilles, se montra totalement avirulent pour le cobaye.

Les modifications organiques en rapport avec le BCG sont de deux ordres : *les réactions tuberculiniques et les réactions nodulaires spontanées locales*.

a) Les réactions tuberculiniques provoquées par le BCG ont d'abord été étudiées chez l'animal (Calmette, P. Nélis), puis chez de jeunes enfants ayant été vaccinés par ingestion (Weill-Hallé et Turpin, H. Buschmann, L. Bernard).

L'allergie cutanée consécutive à la prémunition par voie hypodermique n'a pu faire encore l'objet que de recherches peu nombreuses. Ce dernier type de réaction, ses divers caractères de fréquence, époque d'apparition, évolution, morphologie, est actuellement étudié au dispensaire Villemin à Nancy. Indiquons, anticipant sur un prochain exposé détaillé de ces faits, que, avec la dose de 1 centième de milligramme de BCG, 62 p. 100 des jeunes sujets prémunis ont, à partir de un mois et demi environ, acquis la faculté de réagir, quoique assez faiblement. A ce titre, les réactions tuberculiniques post-vaccinales sont très différentes de celles qu'occasionne, le plus souvent, l'infection naturelle.

b) Les réactions nodulaires locales au lieu d'inoculation sont la règle avec des doses égales, et surtout supérieures à 1/20 de milligramme (Weill-Hallé et Turpin). Avec 1/100 de milligramme, ces accidents se produisent dans environ 10 p. 100 des cas, et avec une fréquence plus grande chez les très jeunes enfants. Ils sont, tantôt précoces (quatre à six semaines après), tantôt plus tardifs (au bout de six à huit mois). Dans la moitié des cas, ces réactions perdent le caractère phlegmasique pur et se transforment lentement en abcès froids. Il est à remarquer toutefois que ces collections ont des caractères bien spéciaux. En dehors de leur extrême torpidité, le pus provenant de leur évacuation aseptique n'a pu, en aucun cas, tuberculiser le cobaye, malgré la présence constante de bacilles acido-résistants ayant séjourné jusqu'à quatre mois au sein de jeunes organismes humains (J. Parisot, Fernier et Saleur [5]).

Cet éveil possible de l'allergie tuberculinique ne paraît d'ailleurs pas, chez les prémunis, influer de manière sensible sur le pouvoir de flocculation de leurs sérums. A ce point de vue,

nous classons, comparativement, deux lots de vaccinés, dont les uns, ultérieurement à l'opération vaccinale, ont réagi, et dont les autres n'ont pas réagi à la tuberculine.

Ont eu des tuberculino-réactions positives : 14 sujets. Leurs index de flocculation : $8 + 24 + 16 + 21 + 25 + 11 + 15 + 38 + 12 + 29 + 30 + 27 + 14 + 9$.

Moyenne : + 20.

Ont eu des tuberculino-réactions négatives : 9 sujets. Leurs index de flocculation : $19 + 14 + 14 + 9 + 10 + 13 + 21 + 16 + 15$.

Moyenne : + 14,5.

Nous pouvons en dire autant pour les réactions nodulaires, parfois violentes, bien que n'ayant jamais de répercussion sur la santé générale ; et pourtant leur intensité comme leur soudaineté pourraient dans quelques cas laisser craindre une reprise passagère de virulence du bacille vaccinal. 5 sujets ont présenté de ces lésions, tant phlegmasiques que suppurratives, avec les séro-floculations ci-après :

Ont eu des réactions phlegmasiques ou suppurratives : 5 sujets. Leurs index de flocculation : $5 + 16 + 12 + 30 + 21$.

Moyenne : + 16.

Il est utile, enfin, de classer les vaccinés d'après leurs antécédents sociaux, et de mettre en parallèle :

a) Ceux de familles indemnes de tuberculose et maintenus en milieu sain ;

b) Ceux qui, passé la « quarantaine » d'isolement, ont été réintégrés dans des milieux bacillaires. Dans ce dernier cas, on peut, en effet, envisager la possibilité de contaminations subséquentes par des bacilles virulents, contaminations inopérantes, certes, au cours de la durée, encore mal connue chez l'homme, de la phase de prémunition, mais qui n'en viendraient pas moins surajouter leur action à l'état créé par la vaccination.

Nous résumons ci-dessous ce parallèle avec les résultats de l'étude optique des sérum :

Sujets n'ayant pas de contacts bacillaires : 30.

Moyenne des index de flocculation : + 15.

Sujets avec contacts bacillaires en cours : 11.

Moyenne des index de flocculation : + 18.

Bien entendu, nous ne voulons pas chercher à tirer argu-

ment de ces divers chiffres en vue d'administrer de nouvelles preuves de la non pathogénéité durable du BCG chez l'homme.

Cette innocuité, en plus de l'expérimentation animale dont nous avons parlé, résulte aussi d'une longue pratique, puisque, depuis le 1^{er} juillet 1924, époque à partir de laquelle cette méthode est entrée dans le domaine public, plus de 210.000 prémunitions ont, en France seulement, été effectuées rien que chez des nouveau-nés.

A Nancy, par les seuls soins du dispensaire Villemin, il a, depuis 1925, été administré du BCG à près de 500 nouveau-nés, et, depuis mars 1927, plus de 400 sujets d'âges divers en ont reçu par voie hypodermique.

Aussi bien avons-nous précédemment démontré qu'une infection tuberculeuse, même fort virulente, telle que peut l'être l'infection naturelle contractée par cohabitation prolongée en milieu bacillaire, ne suffit pas, à elle seule, à éléver le degré de flocculation d'un sérum. Mais, par contre, ce pouvoir flocculant monte considérablement au moment où se déclenchent les évolutions, pulmonaires ou autres.

Nous nous bornerons, — et ceci n'est sans doute pas inutile — à faire remarquer, avec chiffres à l'appui, que, à aucun moment, les sérum de prémunis ne diffèrent de façon appréciable au point de vue de leurs propriétés optiques des sérum de sujets indemnes de toute infection tuberculeuse.

1^o Sujets examinés en état de prémunition (BCG) : 55.

Moyenne des séro-flocculations : + 17.

2^o Sujets indemnes d'infection tuberculeuse : 14.

Moyenne des séro-flocculations : + 15.

Nous avons limité ces recherches sur la sérologie des prémunis au délai de vingt-sept mois qui nous était imposé par l'ancienneté des opérations vaccinales. Ce délai est, sans doute, bien inférieur à la durée de l'immunité conférée, mais il nous paraît suffisant pour asseoir nos conclusions, ou tout au moins pour les orienter.

Il serait utile d'entreprendre des études semblables (flocculation, dosage des anticorps) sur le sang d'animaux traités par le BCG, chez les bovidés par exemple, pour lesquels la durée

de l'immunisation est assez bien établie (dix-huit mois au minimum). Il y aura lieu également de poursuivre ces recherches sur les enfants qui ont été prémunis à leur naissance, et dont les plus âgés sont actuellement dans leur cinquième année (pénétration de bacilles-vaccins par voie digestive et à des doses effectives différentes).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] WESTENRYCK, Un essai d'immunisation des chiens contre la tuberculose pulmonaire par la voie de la plèvre. Travail du laboratoire du Professeur L. Panisset. (*Revue de la Tuberculose*, février 1929).
- [2] GROSFILLEZ, Les essais de prémunition de la tuberculose par le vaccin BCG dans les troupes coloniales. Journée de la Tuberculose : Centenaire de Villemin. (*Archives de Médecine et de Pharmacie Militaires*, octobre 1927).
- [3] J. PARISOT et H. SALEUR, Le vaccin BCG par voie hypodermique dans la prémunition de jeunes sujets soumis ou non à des contacts bacillaires familiaux. Communication à l'Académie de Médecine. (*Bulletin de l'Académie de Médecine*, no 24, 12 juin 1928).
- [4] J. PARISOT, L. FERNIER et H. SALEUR, Le pus des abcès consécutifs aux injections vaccinantes de BCG. Son étude bactériologique et expérimentale. (*Revue de la Tuberculose*, février 1929).
- [5] Paul PARISOT, J. PARISOT et H. SALEUR, Etude sur la condition sanitaire et sociale du quartier « Clodion ». Rapport à M. le maire de la ville de Nancy, février 1929.
- [6] Robert Lévy, La réaction de Vernes à la résorcine au cours de l'infection tuberculeuse. (Evolutions et période latente). (*Thèse de Nancy*, juillet 1929, et Paris, Maloine, éditeur).
- [7] L. BERNARD, R. DEBRÉ et M. LELONG, A propos de la prémunition par le BCG. Faits anatomiques. (*Annales de Médecine*, avril 1929).

**VARIATIONS
DU RAPPORT DES LYMPHOCYTES-MONOCYTES
DANS L'INFECTION EXPÉRIMENTALE DU COBAYE
PAR LE BACILLE TUBERCULEUX,
L'ULTRAVIRUS ET LE BCG.**

CONSIDÉRATIONS SUR L'ORIGINE DES MONOCYTES

par T. DE SANCTIS MONALDI.

En parcourant la littérature qui traite de la tuberculose, on constate que l'un des chapitres les plus discutés est celui relatif aux modifications que cette affection peut provoquer dans la formule hématologique. Depuis les recherches initiales sur ce sujet, on espérait pouvoir observer dans une altération des éléments du sang (aussi nombreux que variés, même dans leur origine), soit un signe de la maladie, quand les données cliniques ne permettent pas encore de l'affirmer, soit des renseignements pronostiques sur son évolution.

C'est pourquoi nous voyons certains auteurs attribuer des valeurs différentes à la diminution ou à la disparition des éosinophiles et à l'augmentation des mononucléaires (en particulier des petits lymphocytes), et d'autres rechercher les variations proportionnelles de la lobulation des noyaux des neutrophiles suivant l'idée d'Arneth.

Après que les études de Naegeli eurent permis d'isoler les monocytes du groupe des mononucléaires du sang, que Simpson et Sabin eurent facilité leur identification par la technique de coloration supra-vitale, Cunningham, Sabin et Doan reprenant et développant l'idée de l'origine réticulo-endothéliale des monocytes, ont émis une nouvelle hypothèse de travail.

Ils ont cherché à démontrer que la tuberculose est une maladie qui atteint, au début, une seule espèce de cellule :

les monocytes, et que la cellule épithélioïde et la cellule géante ne sont que des monocytes modifiés.

Si aujourd'hui, parmi les histologues et les anatomo-pathologues, l'idée est répandue que les monocytes sont peut-être des éléments qui dérivent du *reticulo-endothélium*, de notre côté, quoique confirmant l'importance des modifications et des rapports que cette cellule subit dans le sang circulant périphérique des cobayes, pendant l'infection tuberculeuse, nous apportons des observations qui nous font repousser cette hypothèse.

Si on lit avec attention la littérature qui s'y rapporte, on remarque en effet qu'elle n'est basée sur aucune observation histologique nette et indiscutable.

Si, incidemment, nous faisons allusion à cette question, nous nous occupons principalement dans ce mémoire des variations de la formule hématologique et du rapport lymphocytes-monocytes chez les cobayes soumis, soit à l'infection tuberculeuse virulente, soit à l'infection par l'ultravirüs de Calmette et Valtis, soit à l'infection par le BCG.

Jusqu'à présent, les études hématologiques étaient faites selon les méthodes classiques de coloration sur des préparations fixées et sur des cellules mortes, de sorte qu'on n'observait pas les mouvements de ces cellules, les plus mobiles de l'organisme, et qu'on ne pouvait pas distinguer celles qui, au moment de la prise du sang, étaient encore vivantes, de celles qui ne l'étaient plus.

Une loi biologique généralement acceptée admet que, dans un'organisme qui n'augmente ni ne diminue de poids, le nombre des mitoses cellulaires est en rapport avec le nombre des cellules mortes. Il nous paraît plausible que cette même loi doive prévaloir également, mais en sens inverse, dans l'état infectieux, et que l'augmentation du nombre des cellules mortes ou sa diminution, en regard des quantités moyennes normales, puisse nous donner un indice sur l'évolution ou la régression de ce processus.

Partant de ce principe, nous avons étudié le sang des cobayes dans les conditions d'infection ci-dessus énoncées, avec la coloration supra-vitale, unique moyen d'observer les variations de la mobilité des leucocytes.

Schilling, le premier, en 1908, avait attiré l'attention sur la présence de cellules immobiles dans le sang et il avait décrit les différentes phases de passage du globule blanc de la forme mobile à la forme immobile. Cette inactivité ne doit cependant pas être considérée comme un signe certain de mort de la cellule, puisque ses éléments, noyau et protoplasme, ne se colorent que lorsqu'elle reste immobile pendant plusieurs heures.

Pour ce qui concerne mes expériences sur les cobayes inoculés avec des filtrats de produits tuberculeux, il me paraît opportun de rappeler, avant de décrire ma technique et les résultats obtenus, et afin d'éviter toute confusion pouvant nuire à l'interprétation exacte des phénomènes, que la lympho-adénopathie généralisée ne peut être considérée comme le seul symptôme fondamental de l'action de l'ultravirüs, si l'on n'y trouve ni lésions caractéristiques, ni bacilles acido-résistants, ou enfin si, après plusieurs réinoculations, on ne décèle pas la présence de bacilles de Koch.

Je crois utile, voire même prudent, lorsqu'il s'agit d'aborder le problème de l'ultravirüs tuberculeux, de soumettre au préalable à un examen hématologique les animaux d'essai, en raison de ce que, très fréquemment, ceux-ci sont sujets à des infections secondaires et à des parasitoses qui peuvent altérer profondément leur système lymphatique.

Une simple palpation des ganglions superficiels est tellement fallacieuse pour déterminer l'intégrité du système lymphatique, qu'il serait superflu d'en faire ici la critique.

Avant d'entreprendre mes expériences, j'ai établi la moyenne de la formule normale des cobayes pesant de 250 à 400 grammes. J'ai obtenu ainsi : 5.535.000 globules rouges et 10.000 leucocytes.

Le compte différentiel a donné les pourcentages suivants :

Neutrophiles.	38,99
Eosinophiles.	2,80
Basophiles.	0,13
Monocytes.	8,80
Lymphocytes	49,28

Les rares cellules non classifiables n'ont pas été notées.

Le rapport L. M. (lymphocytes-monocytes) a oscillé autour

du chiffre moyen de 5,88. Ces moyennes ont été établies d'après 250 examens hématologiques de 50 cobayes provenant de l'élevage de l'Institut Pasteur de Garches, dont 6 ont été observés pendant six mois.

Tous les comptes ont été faits le matin et à la même heure.

Mes moyennes diffèrent très peu de celles des auteurs américains W.-M. Lyons et F.-R. Van de Carr. J'ai éliminé de mes recherches les animaux présentant des variations supérieures à 10 p. 100 en plus ou en moins de la normale en neutrophiles et en lymphocytes et à 3 p. 100 en éosinophiles et monocytes (voir graphique n° 1 montrant la moyenne des oscillations des divers leucocytes chez les cobayes normaux).

Le graphique n° 1 montre les petites oscillations que le nombre respectif des diverses espèces de leucocytes a subies chez les cobayes normaux durant les six mois d'observation.

Technique de coloration supra vitale.

Le point essentiel de cette technique, comme de toutes les colorations supra-vitales, est d'obtenir sur toute la surface de la lamelle une couche très mince et uniforme d'un ou de plusieurs colorants. La plus petite trace graisseuse, la présence de grains de poussière ou de fils des chiffons avec lesquels on nettoie les lamelles, suffisent à empêcher l'adhérence uniforme du liquide sur celles-ci et à le faire se rassembler en certains endroits pendant le séchage.

Pour le nettoyage des lamelles (20×30 mm.) et des lames nous procédons de la manière suivante :

Elles sont laissées en immersion pendant trois ou quatre jours dans la solution d'acide sulfurique et de bichromate de potasse utilisée habituellement dans les laboratoires pour dégraisser la verrerie. Elles sont ensuite lavées abondamment à l'eau courante chaude, puis froide, placées dans trois récipients successifs contenant de l'eau distillée courante et laissées durant quatre heures dans chacun de ceux-ci ; on les laisse enfin pendant deux heures dans un dernier récipient contenant de l'alcool à 95°. Au cours de ces diverses opérations, les mains ne doivent jamais toucher les lamelles ; chaque

récipient doit avoir sa pince propre pour les prendre et les passer dans le récipient suivant. Au fur et à mesure qu'on les retire de l'alcool, elles sont flambées, en les passant une à une, sur une flamme de veilleuse. Les dernières particules de graisse ou de matières organiques qui auraient pu y rester adhérentes sont détruites par la combustion de l'alcool demeuré sur les lamelles.

Si, durant cette opération, on ne veut pas perdre de lamelles, il faut avoir soin qu'il ne reste pas trop d'alcool, en particulier sur la partie voisine des pinces, car la chaleur, différemment répartie, provoquerait la cassure de la lamelle.

Les lames sont déposées dans une boîte et séparées l'une de l'autre par un papier parchemin ; les lamelles sont prêtes à être immergées dans la solution colorante.

Dans toutes les formules de coloration vitale au rouge neutre et au vert Janus proposées par Simpson, Sabin, Doan, nous avons remarqué que la quantité de vert Janus était excessive, puisque, déjà après dix à trente minutes, les cellules deviennent immobiles et qu'une légère coloration des noyaux apparaît.

Nous avons donc, par des essais successifs, cherché le mélange le plus adéquat et nous nous sommes arrêté à la formule suivante :

On prépare :

A. Une solution mère de rouge neutre (neutral-roth Grubler) à 1 p. 100 dans l'alcool absolu.

B. Une solution saturée de vert Janus (Janus-grün Grubler) dans l'alcool absolu.

Ces deux solutions mères se conservent pendant plusieurs mois lorsqu'elles sont gardées à la température du laboratoire, bien bouchées, parafinées et à l'abri de la lumière.

Avec ces solutions mères on prépare le mélange suivant, en quantité suffisante pour le nombre de lamelles à colorer :

A 10 cent. cubes d'alcool absolu on ajoute 0 c. c. 40 de la solution mère de rouge neutre : on obtient une solution limpide d'une jolie coloration rouge-rose..

A 20 cent. cubes de cette solution on ajoute 0 c. c. 20 de la solution saturée de vert Janus : la solution obtenue a une teinte caractéristique rouge-violet.

Il faut faire très attention à ce que l'alcool absolu n'ait

pas une réaction acide ; de même pour les récipients où l'on prépare les dilutions. Le mélange ne conserve pas longtemps ses propriétés colorantes.

Les lamelles sont immergées dans la solution ci-dessus, retirées une à une à l'aide de la pince et mises à sécher en position verticale.

Cette opération doit être faite dans une atmosphère peu chaude afin que le séchage du colorant ne soit pas trop rapide, ni inégal, car si la couche de colorant n'est pas uniforme, les leucocytes seront tués là où le colorant se sera concentré, et la recherche des cellules immobiles perdra de sa valeur.

Avec un morceau de tissu de soie légèrement imprégné d'alcool on nettoie une des surfaces des lamelles en opérant toujours avec les pinces, afin que les grains de colorant qui s'y déposent ne troublent pas l'examen microscopique. Pour éviter cette manœuvre, plutôt longue et délicate, on peut procéder comme il suit :

Les lamelles sont disposées horizontalement sur deux baguettes de verre et, avec une pipette, on fait tomber sur chacune d'elles une goutte de colorant qui s'étale rapidement sur toute leur surface ; on les remet alors en position verticale sur un morceau de papier-filtre et on les laisse sécher à la température de la chambre.

Un facteur qui peut compromettre totalement la préparation des lamelles colorées est l'humidité de l'air atmosphérique. Les préparations les mieux réussies sont en général celles aînées par un jour sec et chaud d'été ou d'hiver, dans un laboratoire sec et bien chauffé. Lorsque l'atmosphère est très humide, le colorant est irrégulièrement étalé en raison des propriétés hygroscopiques de l'alcool, les préparations présentent alors des taches et sont absolument inutilisables. Quand les conditions météorologiques sont favorables, il convient de faire une ample provision de lamelles colorées. Celles-ci peuvent se conserver pendant des mois en boîtes, à l'abri de la lumière et isolées à l'aide de papier parchemin.

L'étalement du sang est très simple. Sur une des lamelles préparées avec le colorant, on dépose une gouttelette de sang prélevé par ponction capillaire et, comme pour l'examen à l'état frais de l'hématozoaire du paludisme, on retourne

la lamelle sur la lame préalablement tenue à 37°5, dans la chambre chaude du microscope. Le sang qui, de cette façon, ne supporte pas d'écartes brusques de température pouvant altérer les propriétés vitales des leucocytes (surtout pour ce qui est de leur mobilité), s'étale uniformément sur toute la lamelle. Il faut veiller à ce qu'il n'y ait pas de bulles d'air et à ce que la couche de sang soit le plus mince possible, sans que, pour ce faire, aucune pression ne soit exercée sur la lamelle. La quantité de sang généralement suffisante pour que les globules rouges et blancs soient isolés les uns des autres, ou tout au moins en simple contact, est de 2 à 3 millimètres cubes.

Dès que le sang est étalé, on lute avec de la vaseline les bords de la lamelle, pour éviter le dessèchement de la préparation; celle-ci pourra ainsi être examinée pendant plusieurs heures dans la chambre chaude du microscope. Entre autres modèles nous avons fixé notre choix sur une chambre de microscope chauffée électriquement et dont les variations de température ne dépassent pas 0°5 (1).

Avant de commencer l'examen de la préparation, pour lequel on emploiera l'objectif à immersion 1/12 et l'oculaire 4 ou 6 comp., il convient d'attendre deux à trois minutes pour permettre aux leucocytes de se colorer. Pendant ce temps on laissera toujours la préparation dans la chambre chaude.

Jusqu'au moment où l'on n'aura pas encore acquis une grande pratique de la méthode, il sera prudent de faire concurremment une préparation similaire, mais sur *lamelle non colorée*, afin de contrôler la mobilité et la vitesse du mouvement des leucocytes neutrophiles et éosinophiles. Si ces propriétés sont identiques dans les préparations, c'est que la coloration supravitale est bien réussie. La plus faible coloration du noyau ou du protoplasma traduit avec certitude la mort de la cellule; en ce cas la préparation ne doit pas être utilisée.

L'apparition de mouvements browniens des granulations des polynucléaires est aussi un signe certain de l'altération profonde de la cellule et de sa mort.

Selon notre expérience personnelle, il faut éviter l'examen

(1) Modèle de la maison Jouan de Paris.

des bords de la préparation, contrairement à ce que conseille Sabin, car c'est là que s'altèrent d'abord les leucocytes et qu'ils perdent leur mobilité.

Dans une bonne préparation, les leucocytes restent mobiles pendant cinq à six heures et même plus.

Comment se présentent les éléments figurés du sang de cobaye après la coloration supravitale ?

1^o Pour la série rouge, les hématies apparaissent, suivant la normale, de couleur jaune verdâtre clair. Mais quand il existe des érythrocytes nucléés, on voit ces noyaux fortement teintés en rouge-brun par le rouge neutre.

L'attention est encore attirée par le fait que ces noyaux se meuvent tantôt lentement, tantôt rapidement du centre vers la périphérie, ou le long des bords de la cellule, non seulement suivant le plan horizontal, mais également dans le plan vertical, de sorte qu'on est dans l'obligation de refaire constamment la mise au point pour les suivre.

Comme A. Nyfeldt le fait justement observer à propos du sang humain, il est bien difficile encore de concevoir, après l'observation d'un de ces noyaux mobiles, l'existence de la *spongieuse* des chromocytes.

2^o Les mégaloblastes, comme nous l'avons observé chez un cobaye en état de sévère anémie, se présentent avec un noyau plutôt petit, très irrégulier, coloré en rouge-brun, autour duquel on voit distinctement des mitochondries teintées en vert par le vert Janus et dont le nombre varie suivant le degré de maturation de la cellule.

3^o L'examen des granulocytes permet de constater que le rouge neutre est capable de colorer divers éléments du protoplasma, différant notamment les uns des autres, et de suivre l'évolution chimique de certains d'entre eux.

Le rouge neutre est un indicateur chimique pour les trois types de granulations spécifiques des leucocytes :

a) Avec les granulations des éosinophiles, la réaction se fait vers l'alcalinité (rouge-jaune).

b) Avec les granulations des basophiles, le rouge neutre donne la brillante coloration rouge-violette de la réaction acide.

c) Avec les granulations des neutrophiles il donne une réaction intermédiaire couleur rouge-rosé.

Il est difficile de dire si le colorant pénètre dans les granulations ou s'il reste à leur surface. En ce qui nous concerne, nous nous sommes persuadé après une longue observation que la coloration des grosses granulations des éosinophiles est simplement superficielle et se fait irrégulièrement, car selon les mouvements de la cellule et la position des granulations, ces dernières peuvent apparaître tantôt transparentes au centre, tantôt parfaitement colorées. Mais le rouge neutre n'agit pas seulement sur les granulations du protoplasme, il agit aussi sur les vacuoles digestives dont le liquide est uniformément coloré. Il nous a été donné une fois d'observer qu'à la suite d'une pression exercée sur la lamelle à l'aide d'une aiguille, pression qui avait écrasé l'énorme vacuole d'un leucocyte, il sortait un flot de liquide teinté dont la coloration disparaissait aussitôt dans le plasma environnant.

Le vert Janus, substance très toxique, mais qui, à la dose employée par nous, n'altère pas les mouvements et ne tue pas la cellule, colore seulement les mitochondries en vert intense. Nous conseillons d'utiliser seulement le colorant de la maison Grubler, tous les autres s'étant montrés très toxiques, aux doses employées.

A. — Les leucocytes polynucléaires neutrophiles ont un noyau lobulé de couleur pâle, blanc verdâtre, avec un épais réseau de chromatine. Pendant les mouvements cellulaires, les noyaux s'enchevêtrent, se groupent en rond, formant comme un seul noyau, pour redevenir rapidement lobulés, suivant ainsi et favorisant presque la locomotion, aussi vive que variée, de la cellule. Les granules sont fins, uniformément colorés en rouge et épars dans tout le granuloplasme. Les mitochondries sont également fines, nombreuses, teintées en vert et éparpillées dans le granuloplasme. Les granulations se meuvent rapidement, même quand la cellule est immobile; elles suivent les courants protoplasmiques. Les pseudopodes qu'émet la cellule pour se déplacer sont avant tout hyalins: le granuloplasme s'y déverse, puis viennent les noyaux qui, avec les dernières parties du protoplasme, occupent le nouvel emplacement de la cellule. La plus grande partie des leucocytes polynucléaires neutrophiles est constituée par des cellules de ce type: 97 à 100 p. 100 le matin, 85 à 95 p. 100 dans

l'après-midi. Le reste (3 à 15 p. 100) est formé par les oscillations synchroniques des « leucocytes neutrophiles immobiles ». Le noyau de ces cellules est gros, « œdémateux » (Sabin), sans polymorphisme évident, mais avec la simple empreinte des étranglements qui le caractérisent. La modification essentielle de cette cellule n'est pas seulement la perte de mobilité, mais aussi un changement physico-chimique des granules. Ceux-ci ne sont plus colorés par le rouge neutre, non parce que la membrane cellulaire est devenue imperméable au colorant, mais bien parce qu'il y a eu une altération des propriétés physiques et chimiques du granule qui devient plus réfringent que le même granule éosinophile, et qui acquiert la propriété de devenir soluble dans l'alcool, propriété qu'il ne possédait pas auparavant.

Les granulations sont immobiles. Bien que les cellules ne puissent encore être considérées comme mortes, puisque leurs granulations n'ont pas de mouvements browniens et que leur noyau n'est pas encore coloré, elles doivent quand même être interprétées comme cellules dégénérées, prêtes à mourir.

B. — Les leucocytes basophiles ont un noyau gros et massif, semblable, comme structure, à celui des neutrophiles, et un protoplasme abondant dans lequel sont irrégulièrement distribués les granulations peu nombreuses et grossières. Ces dernières sont teintées d'une façon irrégulière. Seul un examen attentif permet d'observer la mobilité des cellules qui est notablement réduite.

C. — Les leucocytes éosinophiles ont un noyau clair avec peu de lobules.

Les granulations grossières et rondes occupent tout le protoplasme, laissant à peine un halo hyalin restreint à la périphérie.

Les granulations se teintent seulement à la périphérie en raison de ce que, suivant les mouvements de la cellule, elles peuvent apparaître transparentes ou bien fortement colorées en rouge jaunâtre lumineux. Elles se meuvent lentement dans le protoplasme et souvent masquent complètement le noyau. Les mouvements de la cellule sont aussi assez lents, surtout par comparaison avec ceux des neutrophiles.

Les *myéloblastes* sont de grandes cellules, plus petites cependant que celles qui apparaissent dans les préparations

fixées, avec un noyau homogène, des vacuoles vert pâle et de la chromatine disposée en petits bâtonnets. Le protoplasme est homogène et incolore avec un amas de mitochondries de formes et de dimensions variées et presque adossées au noyau. La cellule est à peu près immobile et l'on observe rarement des ébauches de pseudopodes. Même dans le sang périphérique, il est aisé d'observer des figures de division cellulaire amitotiques, comme celles que Sabin et Nyfeldt ont décrites.

Les *myélocytes* ont un noyau rond à membrane très évidente. Leur protoplasme contient de nombreuses granulations de dimensions variées mues par des courants protoplasmiques rapides, bien que la cellule ait une motilité si réduite, qu'elle peut paraître immobile.

Dans le groupe des *agranulocytes*, deux catégories de cellules : les *lymphocytes* et les *monocytes*, qui se différencient nettement dans le sang périphérique par la coloration supra-vitale.

1° **LYMPHOCYTES** : parmi ceux-ci on distingue aisément les trois groupes des *grands*, *moyens* et *petits*. Le plus nombreux est celui des lymphocytes moyens. La quantité de protoplasme varie suivant le type de la cellule.

Le noyau a une membrane évidente et dans le protoplasme hyalin on voit toujours des mitochondries colorées en vert, plus nombreuses dans les grands lymphocytes que dans les petits. Il est impossible que ces trois types ne soient autres que trois étapes différentes du cycle vital d'une seule cellule, et il serait intéressant d'étudier si cette idée pourrait être comparée à celle d'Arneth sur la lobulation des noyaux des polynucléaires. On peut encore observer dans le protoplasme 2, 3 ou 4 granules plutôt gros, colorés au rouge neutre. En général, à 37°, un petit nombre de lymphocytes seulement sont mobiles ; presque tous appartiennent au groupe des moyens. Quand la température de la chambre du microscope atteint 40°, un plus grand nombre de lymphocytes sont mobiles. Les grands lymphocytes sont ceux qui ont le plus petit nombre de formes immobiles. En tout cas, dans les trois types de cellules (même quand celles-ci sont au repos), on distingue nettement les courants protoplasmiques et conséquemment la motilité des mitochondries et des rares granules de rouge neutre.

Quand la cellule commence son mouvement, le noyau est d'abord poussé vers sa périphérie suivant la direction de ce dernier : le protoplasme reste en arrière comme un pseudopode et, contrairement à ce qui se produit chez les polynucléaires, il semble pousser la cellule en avant.

Les lymphocytes facilement reconnaissables par ces caractères, sont les cellules qui, dans le compte différentiel, échappent le plus fréquemment à l'œil le mieux exercé si la couche du sang n'est pas uniformément mince et si l'éclairage de la préparation est trop fort ;

2^e Les MONOCYTES : avec la technique supra-vitale on se convainc aisément que ce groupe comprend les grands mononucléaires et les formes de transition des anciennes classifications. Les dimensions de ces cellules sont variées, mais elles sont en général supérieures à celles des grands lymphocytes. Le noyau, limité par une membrane mince, mais évidente, est le plus souvent excentrique ; il affecte une forme grossière en fer à cheval ou présente seulement sur la partie interne une concavité plus ou moins profonde. Quelquefois on observe même la présence de deux noyaux. Le protoplasme relativement abondant contient deux substances qui réagissent au rouge neutre et qui constituent une formation particulière, constante et caractéristique de ces cellules. Dans la concavité du noyau et autour d'un point central clair, la centrosphère, on observe des petits corpuscules disposés en rosace et colorés par le rouge neutre en rose saumon, puis d'autres, plus grands, en gouttelettes, plus variés de dimensions et de couleur, et disposés assez régulièrement à la périphérie de la rosace. Ces derniers sont certainement des vacuoles digestives. Quels qu'aient été l'âge et les dimensions du monocyte dans le sang circulant périphérique, nous y avons toujours constaté la présence de ces deux formations particulières autour de la centrosphère. La présence de la rosace est plus constante que celle des vacuoles qui l'entourent.

Ces deux formations sont immobiles dans le protoplasme quand la cellule est en repos, mais on peut voir de fins granules ou quelques petites vacuoles périphériques et les mitochondries (qui contrairement à celles des lymphocytes sont dispersées dans le cytoplasme) suivre les courants proto-

plasmiques. Quand la cellule se meut, le cytoplasme émet de fins pseudopodes, puis le noyau se déplace dans la direction du mouvement, et enfin le gros du cytoplasme suit comme nous l'avons décrit pour les lymphocytes.

Même durant les mouvements les plus variés, la rosace centrale, caractéristique du monocyte, reste inaltérée dans sa forme, tandis que les vacuoles qui l'entourent peuvent se disperser dans le protoplasme au cours du mouvement, pour retourner à leur position primitive dès que la cellule s'arrête.

En ce qui concerne la morphologie des monocytes, nous avons encore quelques remarques à mentionner. Dans certaines de nos conditions expérimentales, qui correspondaient toujours à la période de plus grande cachexie des animaux, nous avons observé l'apparition de monocytes particuliers, facilement différenciables des monocytes ordinaires par une rosace plus petite que la normale et par des vacuoles toujours éparpillées dans le protoplasme. Celles-ci n'entourent jamais la rosace ; elles sont irrégulières et peu nombreuses ; le rouge neutre les teinte en rouge légèrement violet.

PLAQUETTES : elles apparaissent comme de petits corpuscules hyalins n'absorbant pas le colorant. Nous avons cependant vu certaines d'entre elles présenter une ou deux fines granulations rouges ou vertes, la même plaquette ne présentant que des granulations d'une seule de ces teintes.

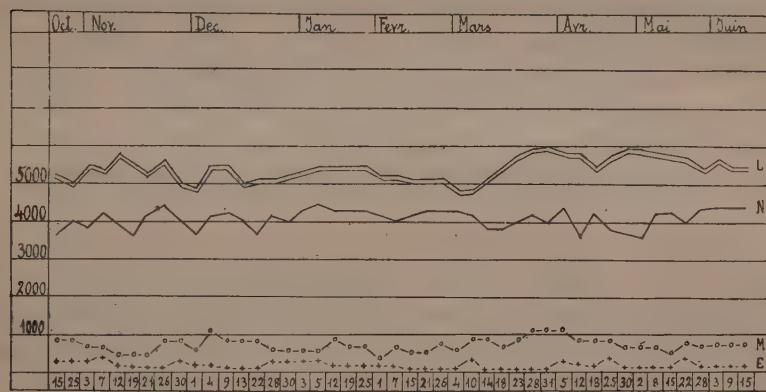
Outre la méthode supra-vitale, nous avons, en vue du contrôle des comptes différentiels, examiné toujours deux préparations de la même goutte de sang, colorées l'une suivant la méthode de May-Grunwald-Giemsa et l'autre suivant celle de Pappenheim-Unna. Cette dernière coloration s'est montrée de si peu d'utilité que nous avons trouvé bon de l'abandonner.

Au contraire, celle de May-Grunwald-Giemsa a donné des résultats identiques à ceux de la coloration supra-vitale pour ce qui est du pourcentage des granulocytes, mais inférieurs pour les monocytes, à la condition que les comptes fussent basés sur la numération d'au moins 200 leucocytes pour les préparations fixées. Si le compte est inférieur à 200 leucocytes pour les préparations fixées, les différences peuvent être énormes et au détriment des comptes de ces dernières.

La facilité, la rapidité de la numération et la sûreté des résultats, une fois acquise une certaine pratique, doivent inciter à user de préférence de cette méthode, qui peut aussi nous donner une image réelle et cinétique de la constitution morphologique du sang.

Méthodes expérimentales et résultats.

Ainsi que nous l'avons déjà dit, le but de ces recherches a été, outre l'étude des variations de la formule hémo-leucocy-



GRAPHIQUE n° 1. — Moyennes des différents leucocytes chez les cobayes normaux.

Légende : N, polynucléaires neutrophiles; E, polynucléaires éosinophiles; L, lymphocytes; M, Monocytes.

taire, celle de l'examen du rapport L.-M. (lymphocytes-monocytes) du sang périphérique du cobaye après inoculation d'ultravirüs, de bacille tuberculeux virulent et de fortes doses de BCG. De plus nous avons également recherché les variations hématologiques consécutives à l'injection de tuberculine filtrée ou non, et d'ultravirüs chauffé.

Si le compte habituel des leucocytes nous donne les variations de pourcentage, seul le nombre actuel des cellules nous indique exactement les variations leucocytaires pour chaque millimètre cube de sang.

Ces données ont été portées sur des graphiques obtenus par la multiplication du nombre total des cellules par le pourcentage de chaque type différentiel supra-vital.

Animaux inoculés avec l'ultravirüs.

Un groupe de 11 cobayes a reçu en injection sous-cutanée 13 cent. cubes de filtrat de culture de Bovine Vallée de sept jours. La filtration a été opérée selon la technique de Valtis sur bougie Chamberland L², à une dépression de 20 cm. de Hg, pendant cinq à huit minutes.

Incidentement, nous tenons à préciser que le germe témoin, même mobile, n'a jamais été retrouvé en ensemencant le filtrat sur milieu ordinaire.

Nous avons divisé ces animaux en deux groupes. Le premier, A, comprend ceux qui ont survécu plus de cinq mois à l'inoculation de l'ultravirüs : et le second, B, comprend ceux qui sont morts dans un délai maximum de trois mois après celle-ci.

GROUPE A. — Les variations de la formule leucocytaire de ce groupe sont indiquées dans les graphiques : n° 2-3-4-5-6.

Les érythrocytes montrent une diminution principalement aux deuxième et troisième mois après l'inoculation, accompagnée d'abaissement correspondant du taux de l'hémoglobine : il s'établit donc une anémie de type secondaire qui, disparaît ensuite par un retour aux valeurs normales.

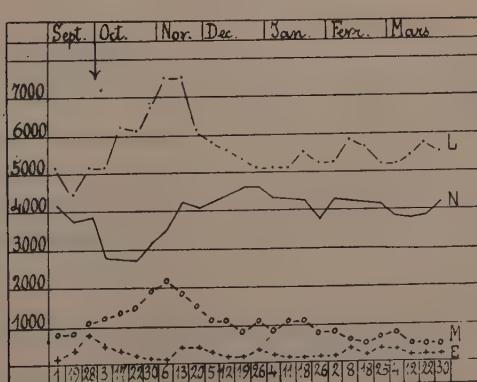
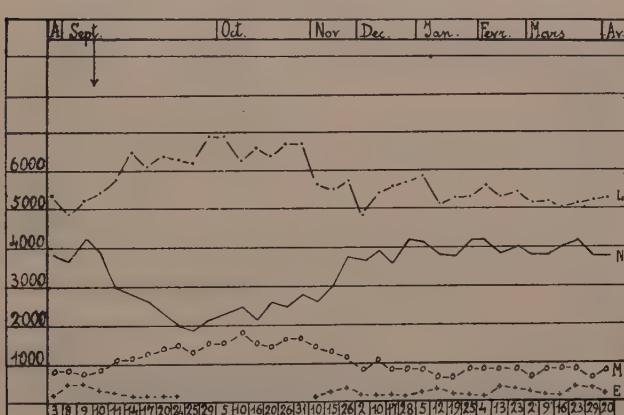
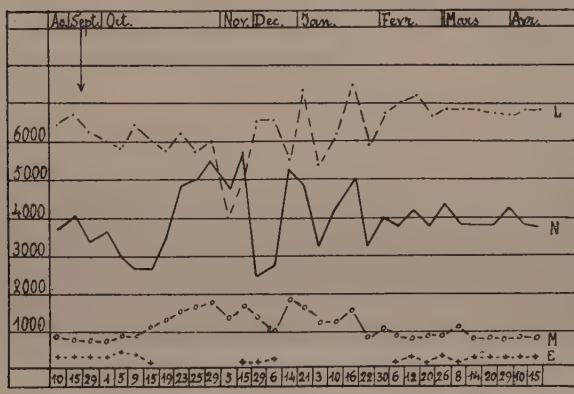
Durant cette deuxième période, nous avons observé chez trois des animaux la présence de rares normoblastes avec noyau fortement teinté, parfois double et mobile. On ne voit pas de modifications importantes du nombre total des leucocytes, mais d'importantes variations d'espèces.

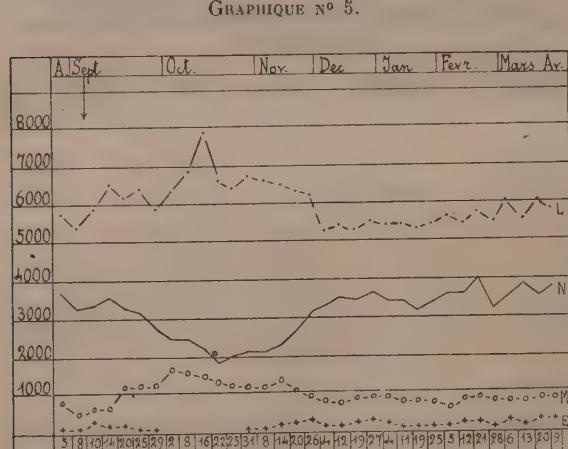
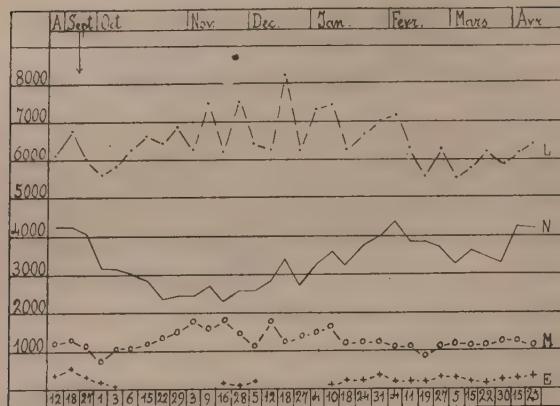
Les polynucléaires neutrophiles diminuent durant le mois qui suit l'inoculation pour augmenter graduellement jusqu'à rejoindre la normale à la fin du deuxième mois et au cours du troisième.

Les éosinophiles diminuent rapidement, et généralement en rapport avec la plus forte dépression des neutrophiles : parfois ils disparaissent complètement. Chez trois animaux, nous avons vu quelques rares basophiles.

La formule d'Arneth présente à ce moment une déviation vers la gauche.

GROUPE A. — Cobayes inoculés avec l'ultravirüs
et ayant survécu plus de cinq mois.





Les courbes des lymphocytes et des monocytes accusent une augmentation de ces deux types de cellules surtout lorsque les neutrophiles et les éosinophiles sont en forte diminution.

Les cellules immobiles observées dans cette série n'ont pas donné de faits particulièrement intéressants quant au nombre et à la fréquence de leur apparition caractéristique, en poussées.

D'autre part, nous n'avons jamais vu ces monocytes particuliers, décrits par nous, à petite rosace centrale et vacuoles dispersées dans le protoplasme.

L'examen du rapport L. M. est particulièrement intéressant dans ce groupe. Ce rapport oscillait au début aux environs de 6;

il s'est abaissé dans la période des plus fortes variations leucocytaires à 3,51, pour remonter, quand les conditions générales de l'animal s'amélioraient, à 6,15-6,20, jusqu'à un maximum de 8,20 comme chez le cobaye n° 2.

GROUPE B. — Celui-ci est constitué par 6 cobayes qui, comme les précédents, ont reçu 15 cent. cubes d'ultravirüs, mais qui sont morts en état de grande cachexie après une période oscillant entre quarante-huit jours au minimum pour le cobaye n° 9 et quatre-vingt-onze jours au maximum pour le cobaye n° 7.

Ces animaux ont perdu jusqu'à 150 grammes de leur poids. L'autopsie a révélé une hypertrophie marquée des ganglions lymphatiques, spécialement des trachéo-bronchiques, indemnes de lésions tuberculeuses macroscopiques, de même que les organes. D'autre part, aucune lésion ayant pu provoquer la mort n'a été constatée et les ensemencements des poumons, de la rate et du sang du cœur sont restés stériles. Une seule fois le *B. mesentericus* s'est développé. Ce germe était certainement dû à une souillure accidentelle ou à une infection *post-mortem*. Pour les deux autres animaux, on n'a pas pu faire les ensemencements, la mort remontant à plusieurs heures.

Dans un frottis de ganglion trachéo-bronchique du cobaye n° 10, nous avons observé de petites granulations juxtaposées, intracellulaires, teintées en rouge par le liquide de Ziehl et acido-résistantes, rappelant la forme d'un petit bacille granuleux tuberculeux. Après deux passages nous n'avons pas trouvé de bacilles acido-résistants dans les frottis des ganglions.

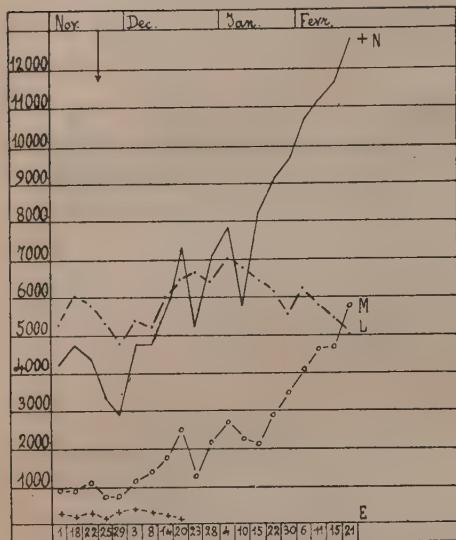
Même résultat négatif après deux passages pour les cobayes n°s 7, 8, 9, 12.

Dans les frottis de ganglions hypertrophiés du cobaye n° 11, nous n'avons pas trouvé non plus de bacilles acido-résistants, mais au deuxième passage nous avons constaté deux petits amas de bacilles constitués par trois ou quatre éléments.

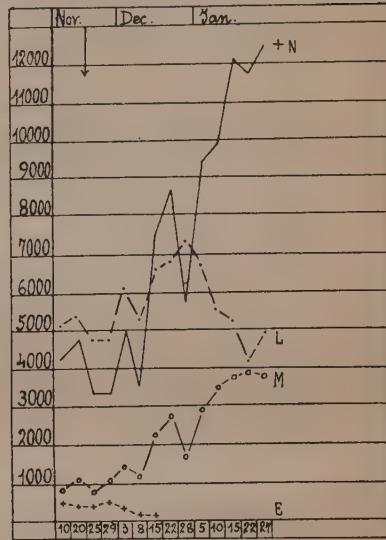
Ce groupe, qui se trouvait presque certainement sous l'action de l'ultravirüs, montre, à l'examen des graphiques, une différence notable avec le groupe A, ce qui le fait se rapprocher du groupe C (cobayes inoculés avec des bacilles tuberculeux virulents).

Dans ce groupe, on observe une anémie rapide marquée, du

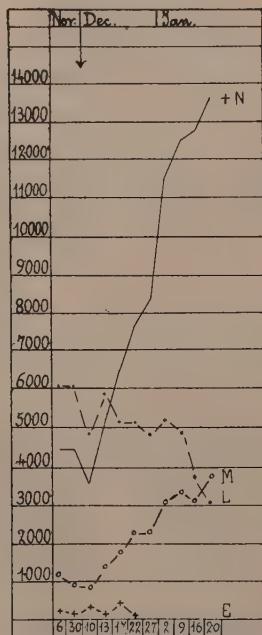
**GROUPE B. — Cobayes inoculés avec l'ultravirüs
et morts dans un délai maximum de trois mois.**



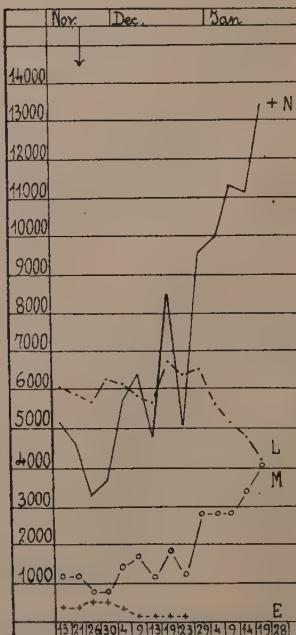
GRAPHIQUE n° 7.



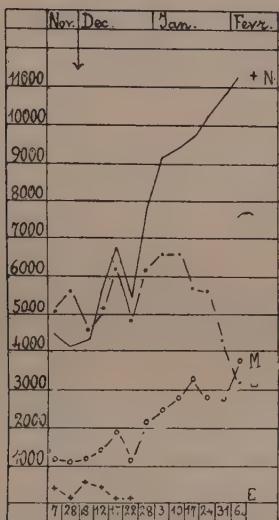
GRAPHIQUE n° 8.



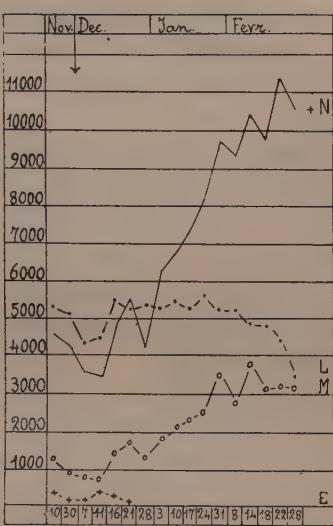
GRAPHIQUE n° 9.



GRAPHIQUE n° 10.



GRAPHIQUE n° 11.



GRAPHIQUE n° 12.

type secondaire, qui se déclare quelques jours après l'inoculation. En effet, les globules rouges diminuent de 1.360.000 à 2.230.000 par millimètre cube et concurremment, il y a diminution proportionnelle d'hémoglobine.

Contrairement au groupe A, on n'observe jamais ici de tendance à la reprise d'activité hémopoïétique, et les normoblastes, comme toutes les autres formes embryonnaires de la série rouge, font défaut.

Le nombre total des leucocytes (voir graphiques n°s 7, 8, 9, 10, 11, 12), après quelques oscillations initiales, augmente progressivement de 10 à 12.000 jusqu'à 20 à 25.000.

Les polynucléaires neutrophiles augmentent progressivement eux aussi (59 à 60 p. 100). Les éosinophiles diminuent lentement jusqu'à complète disparition longtemps avant la mort de l'animal.

La formule d'Arneth dévie notablement vers la gauche.

Les lymphocytes, après une augmentation initiale, diminuent, se rapprochant ainsi du nombre des monocytes, égaux à eux parfois, voire même inférieurs. Les graphiques montrent clairement ce phénomène et l'augmentation des monocytes.

A la période de l'abaissement brusque des lymphocytes cor-

respond une augmentation du nombre des cellules immobiles, en sorte que, sur le même champ microscopique, on peut observer jusqu'à la moitié des neutrophiles incolores et immobiles.

Dans les trois ou quatre derniers jours de la vie, on observe des monocytés à petite rosace centrale et à vacuoles acidophiles dispersées dans le protoplasme, atteignant jusqu'au quart du nombre actuel des monocytés.

Le rapport L/M est profondément altéré. De la moyenne de 4,85, il tombe rapidement à 2,66-2,46, puis enfin, à l'unité et même négatif.

**Animaux inoculés avec 1/1 000 de milligramme
de bacilles tuberculeux bovins (bovine Vallée).**

GROUPE C. — Ce troisième groupe comprend 6 cobayes ayant reçu en injection sous-cutanée 1/1.000 de milligramme de bacilles tuberculeux (souche bovine Vallée). Ces animaux sont tous morts au cours des trois mois consécutifs à l'inoculation, atteints d'intense cachexie. L'autopsie a constamment montré des lésions tuberculo-caséuses diffuses et confluentes des poumons, du foie, de la rate et des ganglions lymphatiques, avec présence de bacilles acido-résistants.

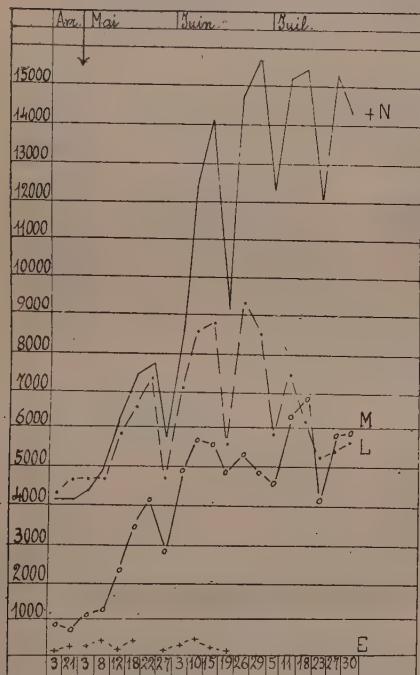
Les graphiques n°s 13, 14, 15, 16, 17, 18, rappellent de très près, ainsi que nous l'avons déjà dit, le groupe B. Ici, également, nous constatons : une anémie marquée et progressive du type secondaire, une très rare présence de normoblastes et une notable leucocytose progressive atteignant une valeur maxima de 25 à 26.000, avec polynucléose de 60 à 63 p. 100. Les éosinophiles, en diminution rapide, disparaissent définitivement un mois ou six semaines avant la mort.

Très fréquemment, au cours des dernières semaines, on note l'apparition de leucocytes basophiles, mais toujours peu nombreux.

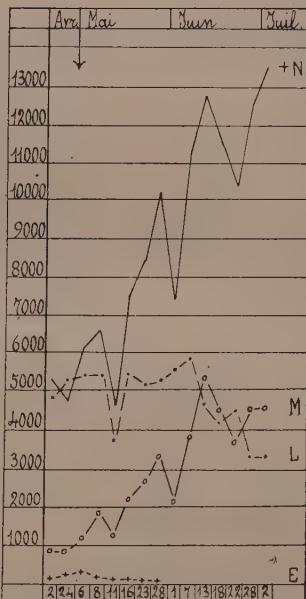
La formule d'Arneth dévie à gauche.

Les leucocytes neutrophiles immobiles ont particulièrement attiré notre attention en raison de leur abondance et de la rapidité avec laquelle leur nombre augmente. Bien que, ainsi que nous l'avons déjà signalé, ces cellules apparaissent toujours en

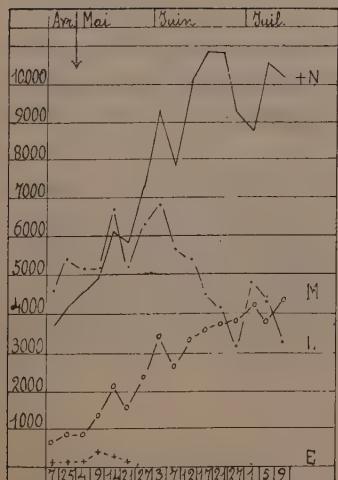
GROUPE C. — Cobayes inoculés avec 1/1.000 de milligramme de bacilles tuberculeux bovins (Bovine Vallée).



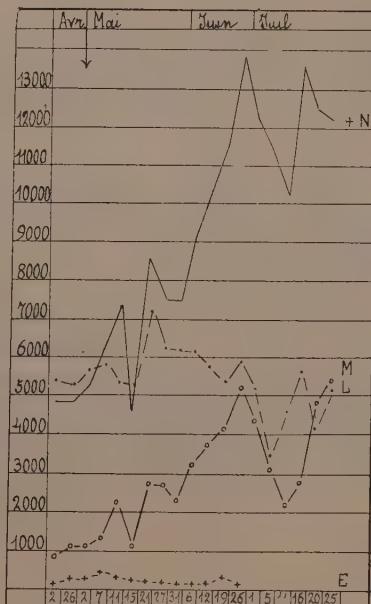
GRAPHIQUE n° 13.



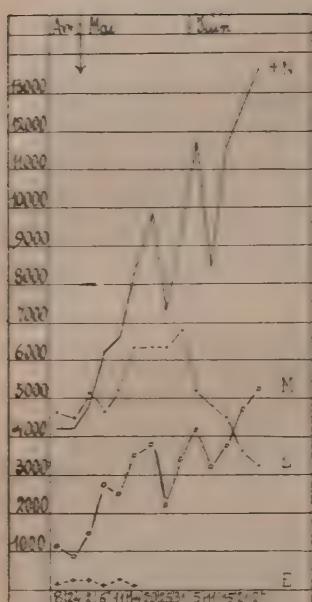
GRAPHIQUE n° 14.



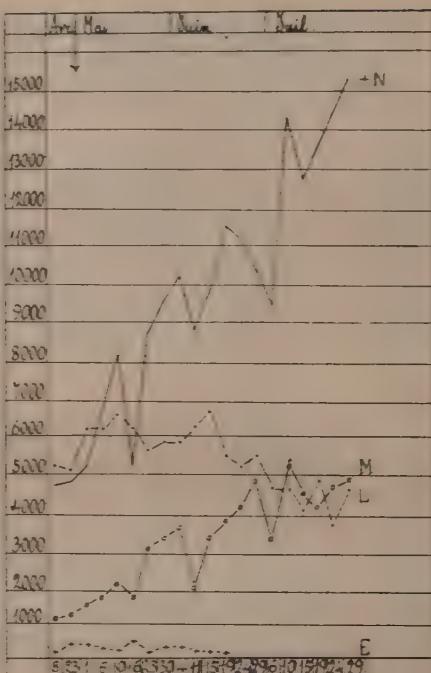
GRAPHIQUE n° 15.



GRAPHIQUE n° 16.



GRAPHIQUE n° 17.



GRAPHIQUE n° 18.

vagues et qu'elles ne soient, chez les animaux normaux, que de brefs orages qui troublent les eaux sans élever de beaucoup le débit du torrent, chez les cobayes inoculés avec l'ultravirüs (groupe B) ou chez les cobayes infectés avec la bovine Vallée, elles apparaissent en pluie persistante et continue provoquant la crue.

Nous avons constaté aussi, comme Cunningham, Sabin, Doan, l'augmentation des monocytes et la diminution des lymphocytes, petits surtout, avec un rapport tombant de 5,38 à l'unité pour devenir négatif.

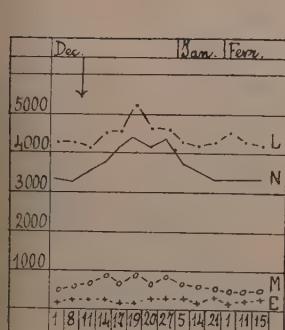
Comme chez les cobayes du groupe B, on observe, la semaine avant la mort, des monocytes à petite rosace centrale et à vacuoles dispersées dans le protoplasme. Il est donc facile de constater que les réactions hématiques du cobaye vis-à-vis de l'infection tuberculeuse mortelle et vis-à-vis de l'ultravirüs sont de forme similaire et presque identiques.

Animaux inoculés avec l'ultravirüs chauffé à 80°.

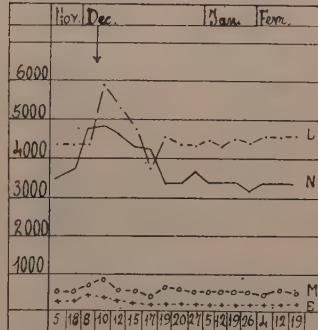
GROUPE D. — Une conséquence logique de l'exposé ci-dessus était la recherche des variations que l'ultravirüs peut produire après avoir été chauffé à 80° trois jours consécutifs pendant une demi-heure.

La dose inoculée aux trois animaux de ce groupe a été également de 15 cent. cubes.

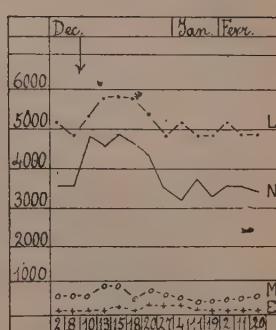
Ici les globules rouges ont des variations insignifiantes ; les

GROUPE D. — Cobayes inoculés avec l'ultravirüs chauffé.

GRAPHIQUE n° 19.



GRAPHIQUE n° 20.



GRAPHIQUE n° 21.

leucocytes, ainsi que les neutrophiles, augmentent modérément (voir graphiques du groupe D : n°s 19, 20, 21).

Les éosinophiles restent dans la normale.

Les polynucléaires immobiles sont extrêmement rares.

Les monocytes oscillent très peu et les lymphocytes augmentent en petit nombre. Pour cette dernière raison le rapport L/M s'élève et c'est ici que nous avons trouvé son maximum.

On n'observe pas de monocytes à petite rosace centrale et à vacuoles dispersées dans le protoplasme.

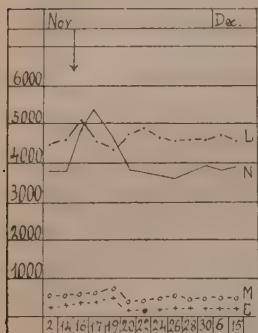
La formule d'Arneth est inchangée.

Les variations réduites, ci-dessus mentionnées, ne durent que quelques jours, puis tout rentre dans l'ordre.

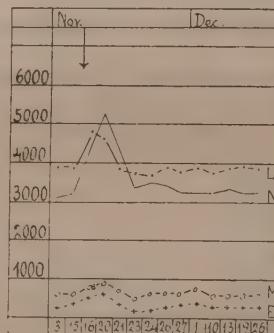
Animaux inoculés avec de la tuberculine.

GROUPES E, F, G. — A la suite de la communication de Hababou-Sala, qui déclarait avoir déterminé chez les cobayes, avec la tuberculine brute, des hypertrophies ganglionnaires

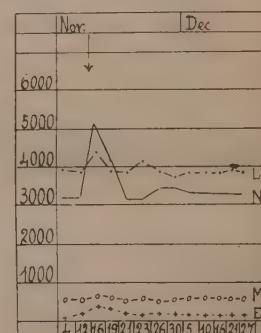
GROUP E. — Cobayes inoculés avec de la tuberculine filtrée sur bougie Chamberland L².



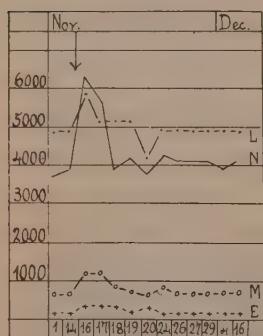
GRAPHIQUE n° 22.



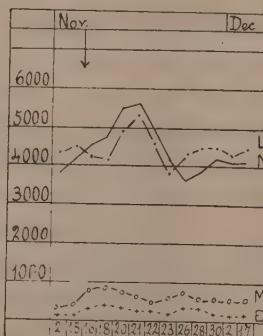
GRAPHIQUE n° 23.



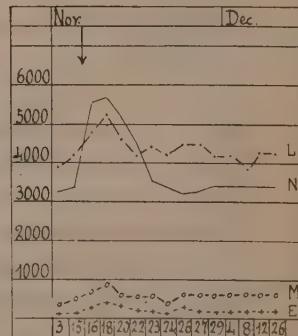
GRAPHIQUE n° 24.



GRAPHIQUE n° 25.



GRAPHIQUE n° 26.



GRAPHIQUE n° 27.

identiques à celles que l'on obtient avec le filtrat de produits bacillifères, nous avons étudié l'action sur la formule hémocyttaire :

1^o De la tuberculine brute de l'Institut Pasteur, diluée à 1/20 et filtrée sur bougie Chamberland L² (20 centimètres

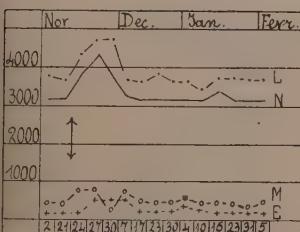
de Ig) pendant cinq minutes, pour éliminer les corps bactériens qui se trouvent dans ce produit (groupe E, voir graphiques n°s 22, 23, 24, 25, 26, 27);

2° De la même tuberculine centrifugée et décantée (groupe F, voir graphiques n°s 28, 29, 30);

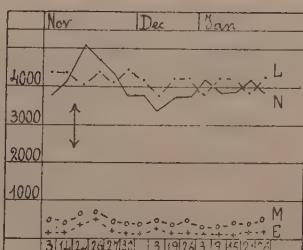
3° Du culot de centrifugation à grande vitesse, pendant trente minutes, de cette tuberculine diluée à 1/10 (groupe G, voir graphiques n°s 31, 32, 33).

Pour ce faire, nous avons inoculé, aux 6 cobayes du groupe E, 1 cent. cube de la tuberculine diluée à 1/20 et filtrée; aux trois

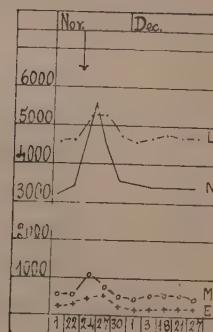
GROUP F. — Cobayes inoculés avec de la tuberculine centrifugée et décantée.



GRAPHIQUE n° 28.



GRAPHIQUE n° 29.



GRAPHIQUE n° 30.

cobayes réunis dans le groupe F, 1 cent. cube de tuberculine diluée à 1/10 et décantée après centrifugation; et enfin, aux trois cobayes du groupe G, 1 cent. cube d'une dilution dans l'eau physiologique d'une quantité de culot de centrifugation correspondant à 1 cent. cube de tuberculine brute.

Nos résultats pour ces trois groupes peuvent être résumés comme suit :

Pour la série rouge aucune modification.

Pour les leucocytes des cobayes des groupes E et F, observations similaires à celles faites pour le groupe D.

A noter une légère augmentation des éosinophiles.

Ici, également, le rapport L/M apparaît constamment élevé.

Les légères modifications observées sont de courte durée et tout redevient normal très rapidement.

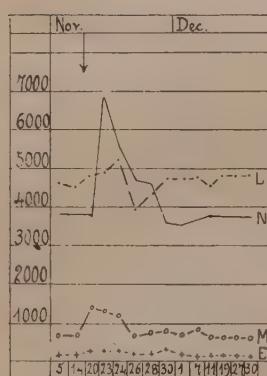
Le groupe G présente quelques particularités en ce sens qu'on peut le caractériser, bien que dans leurs grandes lignes ses graphiques soient similaires à ceux des groupes E et F :

Durant la première semaine, il y a augmentation des leucocytes qui, de 9.000 à 10.000, passent à 13 à 14.000 avec poly-nucléose simultanée.

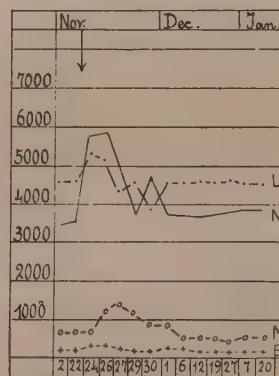
Les éosinophiles ne varient pas.

Les monocytes qui revêtent toujours leur même aspect caractéristique.

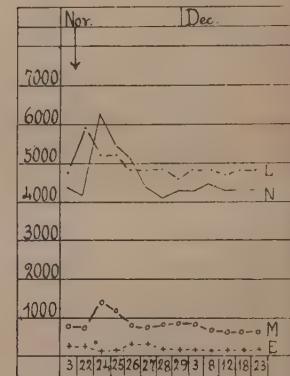
GROUPE G. — Cobayes inoculés avec le culot de centrifugation de la tuberculine.



GRAPHIQUE N° 31.



GRAPHIQUE N° 32.



GRAPHIQUE N° 33.

téristique, sont en légère augmentation; les lymphocytes, au contraire, n'augmentent pas en proportion.

Le rapport L/M s'abaisse de 5,39 à 3,25, mais après une semaine, il a déjà atteint et même dépassé la normale touchant 7.

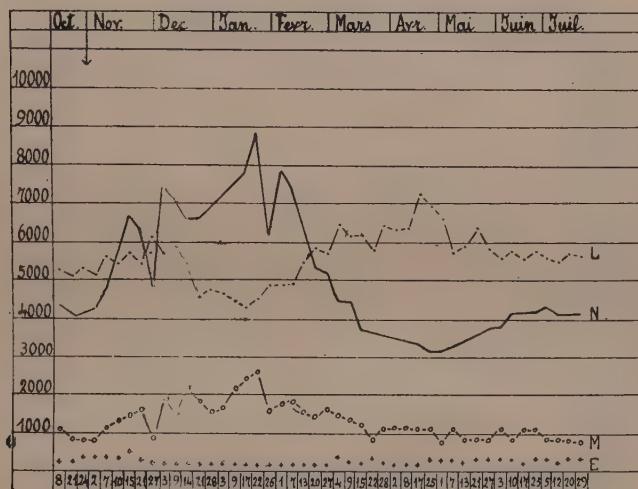
En somme, nous assistons ici à une réaction des cellules blanches du sang, qui disparaît aussi vite qu'elle est apparue.

Animaux inoculés avec le BCG.

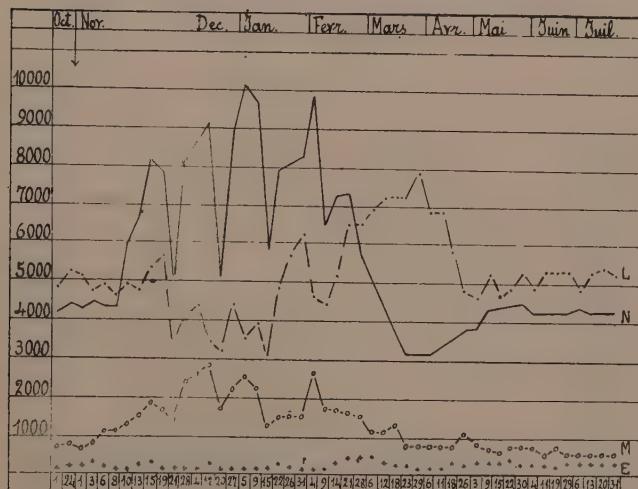
GROUPE H. — Nous avons finalement recherché les modifications hématologiques qui se produisent chez les cobayes inoculés avec le BCG.

Pour obtenir des variations évidentes et indiscutables, nous

GROUPE H. — Cobayes inoculés avec 30 milligrammes de BCG.



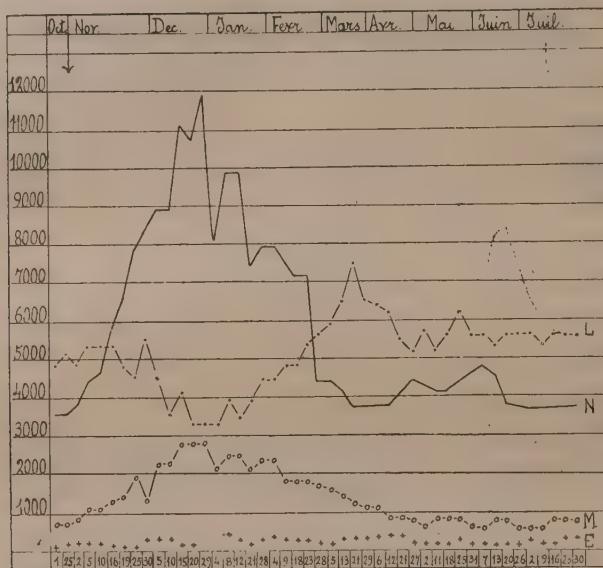
GRAPHIQUE n° 34.



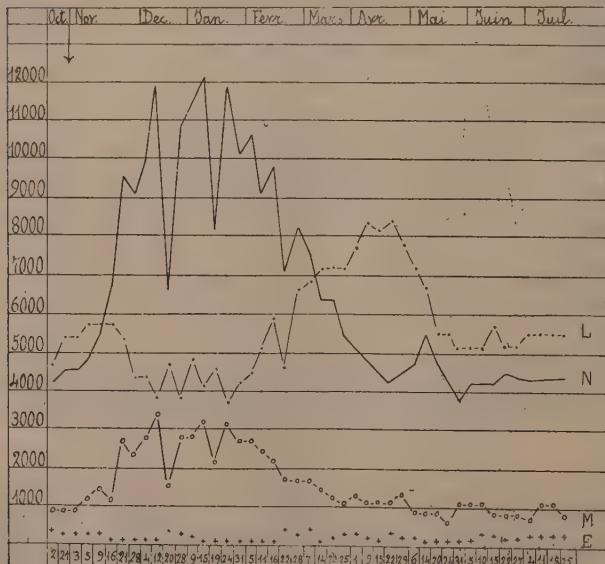
GRAPHIQUE n° 35.

nous sommes servi de fortes doses de ce germe, en inoculant aux 6 cobayes du groupe H, 10 milligrammes de bacilles à trois reprises à quarante-huit heures d'intervalle, c'est-à-dire à la dose énorme de 30 milligrammes.

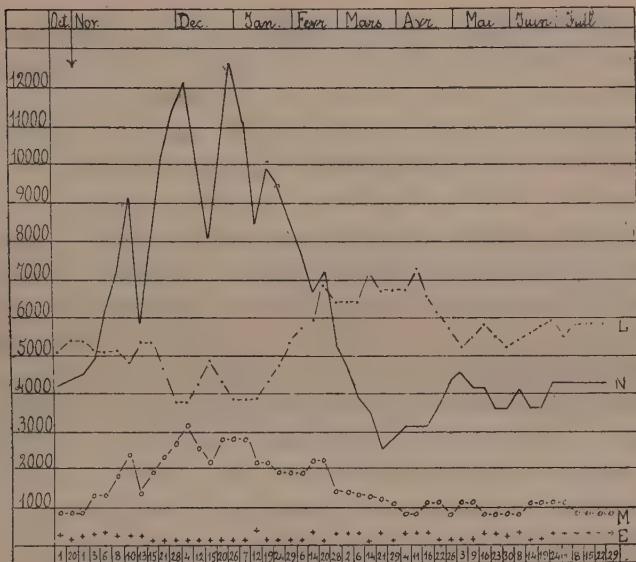
GROUPE H. — Cobayes inoculés avec 30 milligrammes de BCG (suite).



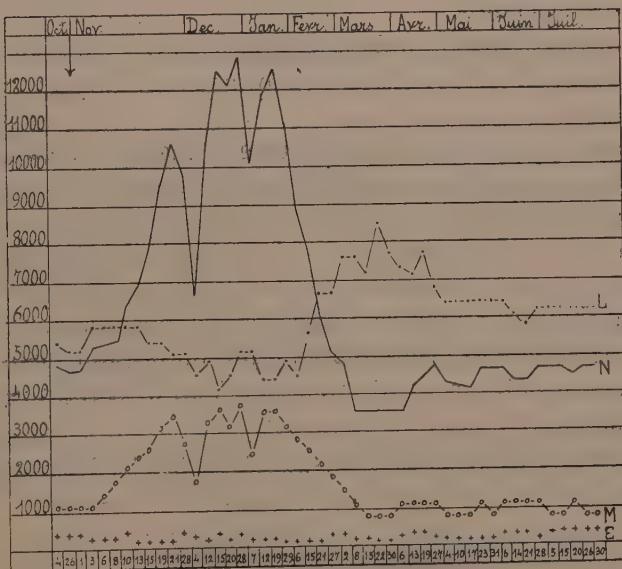
GRAPHIQUE N° 36.



GRAPHIQUE N° 37.



GRAPHIQUE n° 38.



GRAPHIQUE n° 39.

Lorsqu'on songe que c'est cette dose qui est utilisée pour vacciner par la voie buccale un nouveau-né d'un poids variant

entre 3 kilogr. 500 et 4 kilogr. 500, on se rend aisément compte combien elle est colossale pour un cobaye de 250 à 400 grammes.

Aucun cobaye n'est mort et tous, neuf mois après l'inoculation, étaient encore en parfaite santé. Après avoir maigri un peu au début (de 20 à 30 grammes), ils se sont tous bien développés et leur poids a atteint environ 450 grammes.

Tandis que dans le groupe C, nous avons observé une diminution moyenne des globules rouges de 2.250.000 et, dans le groupe B, de 1.500.000, nous avons ici une anémie modérée de 700.000 G. R. vers la fin du deuxième mois; puis le nombre des hématies revient rapidement à la normale.

Durant cette dernière période, il y a apparition de rares normoblastes. Les leucocytes augmentent notablement dès la première semaine (du cinquième au septième jour), mais la leucocytose atteint son maximum (environ 19.000) vers la fin du deuxième mois (Voir les graphiques n°s 34, 35, 36, 37, 38 et 39).

Les polynucléaires neutrophiles atteignent 60 p. 100 et les formes immobiles ne sont nombreuses qu'aux jours de plus intense leucocytose.

Les éosinophiles diminuent parallèlement. Il en est de même des lymphocytes, dont les petites formes sont toujours les plus abondantes.

Les monocytes augmentent fortement, mais sans atteindre les taux élevés qu'on observe dans l'infection tuberculeuse virulente.

A aucun moment, nous n'avons noté la présence de monocytes à petite rosace centrale et à vacuoles disséminées, toujours vus avant la mort chez les animaux des groupes B et C.

Le rapport L/M montre d'importantes variations. Des chiffres initiaux de 4,81, il tombe à l'unité ou presque, sans devenir jamais négatif; puis, il remonte à 6 ou 8, et retrouve enfin sa normale.

La formule d'Arneth dévie à gauche durant la leucocytose.

Considérations générales.

En confirmant notre communication du 22 décembre 1928 dans les *C. R. Soc. Biol.*, et celle de Nasta qui l'a suivie, nous pouvons à l'aide de l'évolution clinique et de nos graphiques

subdiviser en deux groupes les animaux inoculés avec l'ultravirüs, en soulignant leur mode différent de réagir vis-à-vis du même agent infectieux.

Le premier A, dont le rapport L/M, toujours assez élevé, indique le pouvoir défensif actif et vigilant de l'organisme qui a lutté contre l'infection et l'a vaincue.

Le second B, dont l'abaissement constant du rapport indique que, chez ces animaux, les moyens de défense s'amoindrissent rapidement, ainsi qu'il advient dans l'infection tuberculeuse virulente.

Les graphiques du groupe C, qui rappellent de très près ceux du groupe B, confirment ce que Cunningham, Sabin et Doan avaient déjà mis en évidence, à savoir que toujours une augmentation du nombre actuel des monocyles, une diminution de celui des lymphocytes, et un abaissement du rapport L/M, sont un indice de l'évolution de l'infection. En effet, nous avons toujours constaté que l'animal devenait cachectique parallèlement à ces manifestations.

Chez les animaux auxquels on avait inoculé soit de l'ultravirüs, soit du bacille tuberculeux virulent, soit enfin du BCG à fortes doses, les tableaux hématologiques indiquent la progression, la régression ou l'arrêt du processus infectieux.

Les animaux ayant reçu de la tuberculine filtrée ou décantée, ou encore de l'ultravirüs chauffé à 80°, présentent une réaction hématique qui, d'après ses caractères, doit être classée dans celles du type toxique.

On peut donc supposer qu'un élément totalement étranger à la tuberculine et qui a disparu de l'ultravirüs chauffé, agit chez les animaux qui ont reçu l'ultravirüs actif.

La différence de réaction des cobayes à l'inoculation du culot de la tuberculine n'est autre que la réponse du tissu hémolympophoïétique à des éléments cellulaires étrangers morts; le culot de la tuberculine étant, en effet, essentiellement composé de bacilles et de débris de bacilles morts, ainsi que sa préparation microscopique peut nous en convaincre.

Nous considérons que les cellules immobiles, ces formes particulièrement modifiées des leucocytes neutrophiles, fournissent une indication en ce sens qu'elles apparaissent le plus

fréquemment en grand nombre lorsque l'animal maigrit, qu'il est déprimé et qu'il se cachectise.

Elles sont en quelque sorte l'image mobile de la destruction cellulaire causée par les toxines ou par l'infection sur ce tissu particulier qu'est le sang.

Nous attribuons aussi une grande importance, au point de vue de l'évolution de l'infection, au fait que les monocytes à petite rosace centrale et à vacuoles disséminées, apparaissent seulement dans le sang circulant périphérique lorsque l'animal est en état avancé de cachexie, ce qui montre ainsi, une fois de plus, les modifications tinctoriales auxquelles ces cellules peuvent être soumises, modifications qui sont probablement l'indice d'altérations physico-chimiques de leur contenu.

Nous confirmons donc pleinement pour le cobaye les observations de Cunningham, Sabin et Doan sur l'infection tuberculeuse du lapin, mais nous n'admettons pas leur opinion suivant laquelle la tuberculose est une maladie qui affecte, au début, une seule espèce de cellules : les monocytes. Si nos résultats sont similaires à ceux que ces auteurs ont obtenus, en constatant qu'au cours de l'affection tuberculeuse il y a surproduction de monocytes dans le sang circulant périphérique, nous ne pouvons les suivre quand ils affirment que l'origine du monocyte est totalement indépendante de celle du lymphocyte, et que le bacille tuberculeux altère seulement l'activité cytoplasmique de celui-ci, si bien que le bacille tuberculeux ne serait qu'un parasite du monocyte où il trouverait son véritable « habitat ».

Ne voulant pas faire ici l'historique des opinions diverses émises sur l'origine du monocyte, nous dirons seulement qu'au début de nos recherches nous avons, comme d'autres, été séduits par l'hypothèse suivant laquelle les monocytes proviendraient de la cellule réticulaire indifférenciée des tissus à travers une forme transitoire « le monoblaste ».

Toutefois, après l'examen de nos préparations de la moelle osseuse, des ganglions lymphatiques, de la rate, des poumons de cobayes tuberculeux, nous avons dû rapidement abandonner cette hypothèse pour les raisons suivantes :

Si, dans le sang circulant périphérique, il est toujours aisé de différencier nettement, avec la coloration supravitale, les

monocytes des lymphocytes, par la disposition typique chez les premiers, de la rosace de rouge neutre et des mitochondries, quand on examine les préparations des organes hémopoïétiques et lymphoïdes, on se trouve devant des difficultés insurmontables. Sabin, Cunningham et Doan ont voulu démontrer que le monocyte dérive de la cellule réticulaire primitive, et ils décrivent certaines cellules qui seraient des formes transitoires précédant la maturité du monocyte. Or, en examinant des préparations d'organes, on peut facilement voir que les monocytes types sont toujours accompagnés d'un grand nombre de lymphocytes et de cellules monocytoïdes. L'examen de ces dernières montre une série complète avec transitions insensibles, du lymphocyte au monocyte. Au moment où nous voulions commencer à dessiner et à décrire les formes susdites, nous avons eu connaissance de l'ouvrage de W. Bloom qui, après une critique serrée des différentes hypothèses sur l'origine du monocyte, et en particulier de celles de Sabin, Cunningham et Doan, avait déjà vu ce qui retenait notre attention :

1^o Que les cellules des organes hémopoïétiques offrent la gamme des transitions du lymphocyte au monocyte;

2^o Que les modifications de la rosace de rouge neutre et de la disposition des mitochondries sont tellement variées qu'elles ne peuvent être considérées comme caractéristiques constantes des jeunes monocytes.

Nous avons vu, en effet, que des cellules en tout point semblables à des lymphocytes avec une rosace de granules fins ou grossiers, et des vacuoles de dimensions différentes, se colorent toutes deux au rouge neutre, avec des mitochondries amassées en groupe. D'autre part, il n'est pas possible de voir dans aucun organe, la transformation des cellules fixes en monocytes, ni des mitoses en nombre suffisant pour expliquer l'augmentation des monocytes circulants. Bien que nous soyons sans données pour réfuter l'opinion des auteurs qui prétendent que les monocytes proviennent de l'endothélium des capillaires, pour les raisons ci-dessus énoncées, nous sommes plutôt enclins à partager l'hypothèse de W. Bloom, à savoir que les monocytes tireraient leur origine du tissu lymphoïde, deviendraient adultes dans les vaisseaux sanguins et spéciale-

ment dans les sinus de la rate et du foie, où la transformation aurait probablement lieu sur une plus grande échelle, le courant y étant particulièrement ralenti.

Sur les tableaux 1 et 2 du travail de W. Bloom sont représentées les formes de passage entre lymphocytes et monocytes, comme nous-même les avons vues; nous ne pourrions les reproduire de façon plus exacte.

De plus, l'hypothèse de la fixation du bacille tuberculeux dans le monocyte seulement n'a pas une base bien solide.

En effet, Sabin, Doan et Cunningham, faisant d'autres expériences, non pas avec le bacille tuberculeux, mais avec des fractions différentes (protéidique et phosphatidiques) provenant de sa désintégration chimique, obtiennent également une monocytose ou une augmentation des clastmatocytes, si bien qu'à leur tour ils doivent admettre que ces deux espèces de cellules ne sont que des réactions cellulaires apparemment et fonctionnellement différentes de la même cellule stimulée différemment. Ceci nous fait mieux comprendre le rapport existant entre les lymphocytes et les monocytes dans l'infection tuberculeuse et qu'à l'augmentation des uns correspond la diminution des autres et vice-versa.

Enfin, l'apparition des monocytes modifiés, décrits par nous chez les animaux en état avancé de cachexie et d'intense leucocytose, est à notre avis un exemple de plus d'un nouveau mode de réaction du même élément cellulaire probablement vis-à-vis de nouveaux produits.

Ces monocytes modifiés ne correspondent pas à une augmentation de la tuberculine circulante, car nous ne les avons jamais observés chez les cobayes inoculés même avec de la tuberculine brute.

Nous étudierons dans un prochain travail quelles sont les conditions qui règlent ces rapports, quels sont les éléments, ou, pour être plus précis, quelles sont les stimulations capables de déterminer la réaction dans un sens plutôt que dans l'autre.

Conclusions.

1^o La formule hématologique des cobayes inoculés avec de l'ultravirus doit être subdivisée en deux types : l'une où le rapport L/M est toujours relativement élevé chez les animaux qui arrivent à vaincre l'infection : l'autre où le rapport L/M descend jusqu'à devenir négatif chez les animaux qui meurent cachectiques et dont le système lymphatique hypertrophié peut, au cours des passages, présenter des bacilles acido-résistants.

2^o Les graphiques des globules blancs de ce dernier groupe et les variations du rapport L/M ressemblent beaucoup et arrivent même à s'identifier à ceux des cobayes soumis à l'infection tuberculeuse virulente.

3^o Les animaux inoculés avec le BCG à fortes doses (30 milligr.) ont des courbes se rapprochant de celles des animaux qui ont résisté à l'ultravirus. Le rapport L/M ne devient jamais négatif, et deux ou trois mois après l'inoculation il double de valeur, parfois davantage, autorisant un bon pronostic.

4^o L'apparition en grand nombre de cellules immobiles se produit pendant les fortes leucocytoses et la cachexie chez les animaux inoculés avec le bacille tuberculeux virulent ou avec l'ultra-virus.

5^o On constate également, et seulement chez ceux-ci, les jours précédant la mort, l'apparition de monocytes à petite rosace centrale et à vacuoles dispersées dans le protoplasme.

6^o Chez les animaux inoculés avec le BCG, les cellules immobiles n'atteignent jamais des chiffres élevés et les monocytes à petite rosace n'apparaissent jamais.

7^o Les réactions leucocytaires déterminées par l'inoculation de tuberculine ou d'ultravirus chauffé à 80° sont de courte durée et de type totalement différent des réactions précédentes.

BIBLIOGRAPHIE

ARNETH (J.), *Die qualitative Blutlehre*. W. Klinkhardt, Leipzig, 1925.
 ASCHOFF (L.) et KIYONO (K.), Zur Frage der grossen Mononucleären, *Folia haemat.*, 15, 1913, p. 383.

BLOOM (W.), The hemopoietic potency of the small lymphocyte. *Folia haemat.*, Arch. **33**, 1926, p. 122.

BLOOM (W.), Transformation of lymphocytes of thoracic duct into polyblasts (macrophages) in tissue culture. *Proc. Soc. for Exp. Biol. and Med.*, **21**, 1927.

BLOOM (W.), Mammalian lymph in tissue culture. From lymphocyte to fibroblast. *Arch. f. exp. Zellforsch. bes. Gewebszucht*, **5**, 1928, p. 26.

BLOOM (W.), The relationships between lymphocytes, monocytes and plasmacells. *Folia haemat.*, **37**, 1928, p. 63.

BLOOM (W.), The origin and nature of the monocyte. *Folia haemat.*, **37**, 1928, p. 1.

BUNGELEB (W.), Experimentelle Untersuchungen über die Monocyten des Blutes und ihre Genesè aus dem Retikuloendothel. *Beitr. z. path. Anat. u. z. Allg. Path.*, **76**, 1926, p. 181.

CARREL (A.) et EBELING (A.), Pure cultures of large mononuclear leucocytes. *Journ. Exp. Med.*, **36**, 1922, p. 365.

CUNNINGHAM (R. S.), SABIN (F.) et DOAN (C. A.), The development of leucocytes, lymphocytes and monocytes from a specific stem cell in adult tissue. *Carnegie Inst. Contrib. to Embriol.*, **16**, 1925, p. 227.

CUNNINGHAM (R. S.), The differentiation of two distinct types of phagocytic cells in the spleen of the rabbit. *Proc. Soc. for Exp. Biol. and Med.*, **21**, 1924, p. 326.

CUNNINGHAM, SUGIYAMA (S.) et KINDWALL, Function of monocyte in tuberculosis. *Bulletin of the Johns Hopkins Hospital*, **37**, 1925, p. 23.

DE SANCTIS MONALDI (T.), Action de l'ultravirüs tuberculeux sur la formule hémato-leucocytaire chez le cobaye. *C. R. Soc. Biol.*, **99**, 1928, p. 1942.

DOMINICI (H.), Histologie de la rate au cours des états infectieux. *Arch. de Méd. exp. et d'Anat. pathol.*, **12**, 1900, p. 733.

DOWNEY (H.) et WEIDENREICH (F.), Ueber die Bildung der Lymphozyten in Lymphdrüsen und Milz. *Arch. f. mikr. Anat.*, **80**, 1912, p. 306.

FERRATA (A.). *Le emopatie*. Soc. Edit. Libraria, Milano, 1928.

FISCHER (A.), Sur la transformation *in vitro* des gros leucocytes mononucléaires en fibroblastes. *C. R. Soc. Biol.*, **92**, 1925, p. 409.

HABABOU-SALA. *C. R. Soc. Biol.*, **99**, 1928, p. 1217.

KINDWALL (J.), A supravital study of the cells of the lymph stream of the rabbit. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, **40**, 1927, p. 39.

KIYONO (K.). *Die vitale Karminspeicherung*. G. Fischer, 1914, Jena.

LANG (F. J.), Experimentelle Untersuchungen ueber die Histogenese der extramedullären Myelopoyese. *Zeitschr. f. mikr. anat. Forsch.*, **4**, 1926, p. 417.

LEWIS (M.), Origin of the phagocytic cells of the lung of the frog. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, **36**, 1925, p. 361.

LEWIS (M.), The formation of macrophages, epitheloid cells and giant cells from leucocytes in incubated blood. *Amer. Journ. Path.*, **1**, 1925, p. 91.

LEWIS (H. S.), WILLIS et LEWIS (W. H.), The epitheloid cells of tuberculous lesion. *Tubercle*, **4**, 1925, p. 329.

LEWIS (M.) et LEWIS (W. H.), Transformation of mononuclear blood cells into macrophages, epitheloid cells and giant cells in hanging drop blood cultures from lower vertebrates. *Carnegie Inst. Contrib. to Embryol.*, **18**, 1926, p. 95.

LYONS et DE GARR (V.), The blood of normal guinea-pig. *Proc. of the Soc. Exp. Biol. a. Med.*, **25**, 1927.

VARIATIONS DU RAPPORT DES LYMPHOCYTES-MONOCYTES 107

MASUGI (M.), Ueber die Beziehungen zwischen Monozyten und Histiozyten. *Beitr. Z. path. Anat. u. z. allg. Path.*, **78**, 1927, p. 396.

MAXIMOW (A.), Tuberculosis of mammalian tissue *in vitro*. *Journ. of Inf. Dis.*, 1925.

MAXIMOW (A.), Bindegewebe und Blutbildung Gewebe v. Möllendorfs. *Handb. d. mikr. Anat.*, J. Springer-Berlin, 1927.

MAXIMOW (A.), Mammalian blood in tissue culture. From lymphocyte and monocyte to connective tissue. *Arch. f. exp. Zellforsch. bes. Gewebszucht*, 1928.

MC JUNKIN (F.), Identification of two types of mononuclear phagocytes in the peripheral blood of rabbits. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **23**, 1925, p. 64.

MERKLEN (P.) et WOLF (M.), Le monocyte. Cytologie et histogenèse du mononucléaire granuleux des tissus et du sang. *Ann. d'Anat. Pathol.*, **4**, 1927, p. 621.

MICHAELIS (L.) et WOLF (A.), Ueber Granula in lymphozyten. *Virchows Arch. f. path. Anat.*, **167**, 1902, p. 151.

MURRAY (E.), WEBB (R.) et SWANN (M.), A disease of rabbits characterized by a large mononuclear leucocytosis caused by a hitherto undescribed bacillus. Bacterium monocytophaga. *Journ. Path. and Bact.*, **29**, 1926, p. 407.

NASTA, BLECKMANN, TUSSARU, Modifications du nombre des leucocytes et de la formule leucocytaire chez les cobayes infectés avec le BCG. *C. R. Soc. Biol.*, **101**, 1929.

NASTA, BLECKMANN, Modification du nombre des leucocytes et de la formule leucocytaire chez les cobayes infectés avec le virus tuberculeux filtrable. *C. R. Soc. Biol.*, **101**, 1929.

NYFELDT (A.), Vitale Leuko-und Chromocytogen Studien. *Acta Medica Scandinavica*, **66-3**, 1927.

PAPPENHEIM (A.) et FERRATA (A.), Ueber die verschiedenen lymphoiden Zellformen des normalen und pathologischen Blutes mit spezieller Berücksichtigung der grossen Mononukleären des Normalblutes und ihrer Beziehung zu Lymphozyten und myeloischen Lymphoidzellen. *Folia haemat.*, **10**, Arch., 1910, p. 78.

PAPPENHEIM (A.), Ueber verschiedene Typen von Leukozyten und Monozyten, zum Teil im scheinbar normalen Blut. *Folia haemat.*, **12**, 1911, p. 26.

PAPPENHEIM (A.), Einige Worte ueber Histiozyten, Splenozyten und Monozyten. *Folia haemat.*, **16**, Arch. 1913, p. 1.

SABIN (F.), DOAN (C. A.) et CUNNINGHAM (R. S.), Discrimination of two types of phagocytic cells in the connective tissues by the supravital technique. *Carnegie Inst. Contr. to Embryol.*, **16**, 1925, p. 425.

SABIN (F.), DOAN (C. A.), The relation of monocytes and clasmatocytes to early infection in rabbits with bovine tubercle bacilli. *Journ. Exp. Med.*, **46**, 1927, p. 627.

SABIN (F.), The biological reactions to the protein and phosphatide fractions from the chemical analysis of human tubercle bacilli. *Journ. Exp. Med.*, **46**, 1927, p. 645.

SCHILLING (V.), Lebende weisse Blutkörperchen im Dünkefeld. *Folia haemat.*, **6**, 1908, p. 429.

SCHILLING (V.), Der Monozyt in trialistischer Auffassung und seine Bedeutung im Krankheitsbilde. *Med. Klin.*, **22**, 1926, p. 563.

SIMPSON (E. M.), The experimental production of macrophages in the circulating blood. *Journ. Med. Res.*, **43**, 1922, p. 77.

WITTS (L. J.) et WEBB (R. A.), The monocytes of rabbit in *B. monocytygenes*-infection: a study of their staining and histogenesis. *Journ. of Path. and Bact.*, **30**, 1927, p. 687.

WOLLENBERG (H. W.), Die historische Entwicklung der Monozytenfrage. *Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderheil*, **25**, 1925, p. 638.

RECHERCHES SUR LA TEMPÉRATURE CRITIQUE DU SÉRUM (55°-58°) AU MOYEN DES MESURES PHOTOMÉTRIQUES

(TROISIÈME MÉMOIRE)

par P. LECOMTE DU NOUY.

Poursuivant l'étude systématique des modifications physico-chimiques du sérum sanguin sous l'influence de la température, et en particulier aux environs des températures critiques comprises entre 55° et 60°; nous avons mesuré, d'une part le rapport de la quantité de lumière transmise, d'autre part le rapport de la quantité de lumière diffusée latéralement, à la quantité de lumière incidente. En d'autres termes, dans le premier cas nous avons mesuré l'opacité, ou plus exactement la densité optique du sérum, entre 20° et 70°; et dans le second cas, l'intensité de la lumière diffusée (1) à angle droit par les molécules et les particules colloïdales, aux mêmes températures. Le présent mémoire a pour but d'exposer les résultats expérimentaux obtenus.

Il est peut être bon de rappeler en quelques mots les phénomènes que nous avons signalés précédemment et qui démontrent l'existence d'une région critique entre 55° et 58°, correspondant à une altération chimique (moléculaire) des éléments du sérum, accompagnée de modifications dans leurs propriétés physico-chimiques. Ce sont : 1° l'augmentation du pouvoir rotatoire lévogyre du sérum qui, pour des temps de chauffage de l'ordre de cinq minutes, commence à se manifester à 55°, et augmente très rapidement (2). Ce phénomène indique l'existence d'une modification de nature chimique des éléments du sérum. 2° l'existence d'un minimum absolu de viscosité aux

(1) Le terme « diffraction » est employé fréquemment aux États-Unis et en Angleterre. En France, le terme « diffusion » est préféré.

(2) LECOMTE DU NOUY, Ces *Annales*, 1929, 43, p. 749.

environs de 56°. Jusqu'à 55°, la viscosité spécifique du sérum est sensiblement constante; entre 56° et 57°, elle atteint une valeur absolue minima correspondant déjà à une augmentation de sa valeur spécifique, et à partir de 57°, ces valeurs augmentent rapidement (1). Ce phénomène est l'indice de modifications physico-chimiques corrélatives de l'altération chimique primordiale.

Nous allons montrer que l'on peut mettre ce phénomène également en évidence par des mesures photométriques.

Dispositif expérimental. — Nous avons employé le photomètre Vernes, Bricq et Yvon, construit par Jobin. Cet appareil est trop connu pour qu'il soit nécessaire de donner sa description. Les travaux des auteurs de l'instrument ont montré qu'il y avait intérêt à travailler en lumière monochromatique de grande longueur d'onde. Pour cette raison on emploie des écrans rouges (α et F de Wratten) dont l'un (α), donne une lumière pratiquement monochromatique, et dont l'autre, d'un rouge plus clair, permet à une plus grande quantité de lumière de passer, mais avec une sélectivité moindre. Le premier écran (α) fut employé exclusivement pour la mesure de la transmission (densité). Le second fut réservé à la mesure de la diffusion, la quantité de lumière diffusée à angle droit étant beaucoup plus faible que la quantité transmise directement. Dans les deux cas le faisceau lumineux, après avoir traversé le liquide ou après sa diffusion, est comparé au faisceau normal auquel on fait subir au besoin des diminutions d'intensité connues au moyen d'écrans rouges de densité bien déterminée. Il est évident que la quantité de lumière diffusée sera d'autant plus grande que les particules en suspension seront plus grosses, plus opaques ou plus nombreuses; le cône de Tyndall est d'autant plus intense que la solution est plus riche en colloïdes. Au contraire, la quantité de lumière qui traverse le liquide est évidemment d'autant plus grande que le liquide est plus clair. Les lectures, dans le cas d'une opacité croissante, fournissent donc des chiffres qui varient en sens inverse de la densité.

Les mesures s'effectuent de la façon suivante: Si pour réaliser l'égalité des plages, on a dû introduire sur le faisceau de

(1) LECOMTE DU NOUY, *Ces Annales*, 42, p. 1928, p. 742.

droite par exemple, celui qui traverse la cuve, une surcharge de densité D , et sur celui de gauche — celui qui traverse les coins au moyen desquels on établit l'égalité — une surcharge de densité g , et si, en outre, on a pu amener le coin à la division N , la densité δ de l'absorbant étudié est donnée par la formule :

$$\delta = 0,62 + 0,047 \times N + g - d.$$

Les densités des différentes surcharges, dans l'appareil employé, ont les valeurs suivantes.

Sur le faisceau de gauche :

$$A_g = 1,41; \quad B_g = 2,41.$$

Sur le faisceau de droite :

$$A_d = 1,50; \quad B_d = 2,49.$$

Cette formule s'applique au cas où l'on emploie l'écran rouge foncé, α . Dans le cas où l'on emploie l'écran F , la valeur trouvée pour δ doit être multipliée par le coefficient 1,15.

Étant donné que les auteurs emploient indifféremment le coefficient de réduction, l'opacité, la densité, le coefficient d'absorption ou le coefficient d'extinction pour exprimer leurs résultats, il ne nous semble pas inutile de rappeler la signification de ces différentes grandeurs.

1^o Le coefficient de réduction exprimé par r est égal à :

$$r = \frac{I}{I_0},$$

I_0 étant l'intensité du flux incident, et I celle du flux émergent).

On l'appelle aussi coefficient de transmission.

2^o L'opacité s'exprime par :

$$W = \frac{1}{r} = \frac{I_0}{I}.$$

3^o La densité δ par :

$$\delta = \log W = \operatorname{colog} r = \log \frac{I_0}{I}.$$

4^o Le coefficient d'absorption K , est défini par

$$I = I_0 e^{-Kl},$$

l étant l'épaisseur de l'absorbant en centimètres. Toutes les

cuves employées ayant 1 centimètre d'épaisseur nous avons (M étant le module classique 0,434) :

$$\delta = \log \frac{I_0}{I} = MK \text{ et } K = \frac{1}{M} \delta. \quad \text{or} \quad \frac{1}{M} = 2,30.$$

Le coefficient d'absorption n'est donc autre que la densité multipliée par la constante 2,30.

5^o Le coefficient d'extinction, surtout employé en Angleterre

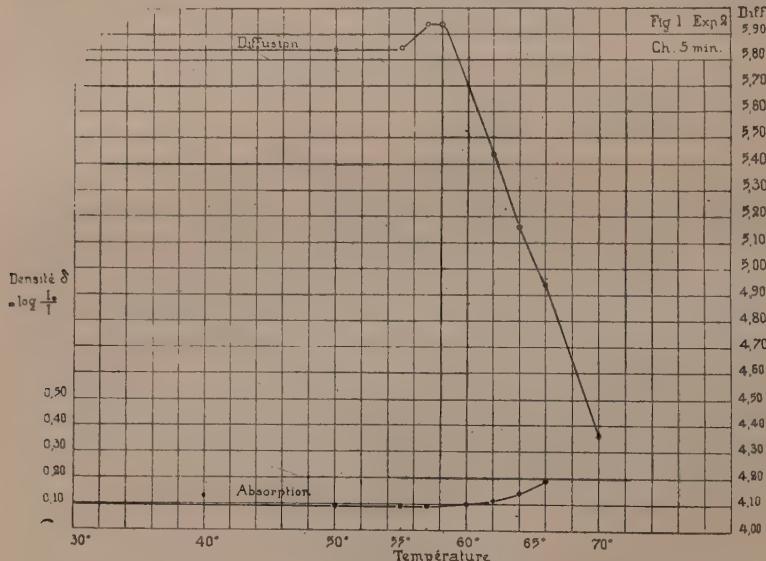


Fig. 1. — Courbes d'absorption et de diffusion de la lumière.
Sérum normal chauffé pendant cinq minutes.

et en Amérique, est numériquement égal à l'inverse de l'épaisseur capable de réduire l'intensité de la lumière à 1/10 de sa valeur. On démontre que ce coefficient s'exprime par le logarithme négatif de l'intensité de la lumière transmise, quand l'épaisseur de la cuve est de 1 centimètre.

Dans ce mémoire, nous emploierons exclusivement la *densité* pour exprimer nos résultats expérimentaux. Cette quantité présente l'avantage d'être commode à manier et d'avoir une signification claire. En effet un absorbant de densité 2 a une opacité de 100 et un coefficient de réduction de 1/100. C'est-à-dire qu'il ne laisse passer que 1/100 de la lumière incidente. Un absor-

bant de densité 3 aura une opacité de 1000, et ainsi de suite.

On ne perdra pas de vue le fait que δ est un logarithme, c'est-à-dire qu'une valeur de $\delta = 1,602$ par exemple exprime une densité double de celle de $\delta = 1,301$. Cette notation est tout à fait semblable à celle couramment employée pour les *pH*.

CHAUFFAGE DU SÉRUM : Le sérum — environ 5 cent. cubes — était recueilli après exsudation et centrifugé immédiatement

TABLEAU I (EXPÉRIENCE N° 2). — Sérum de cheval frais chauffé pendant cinq minutes.

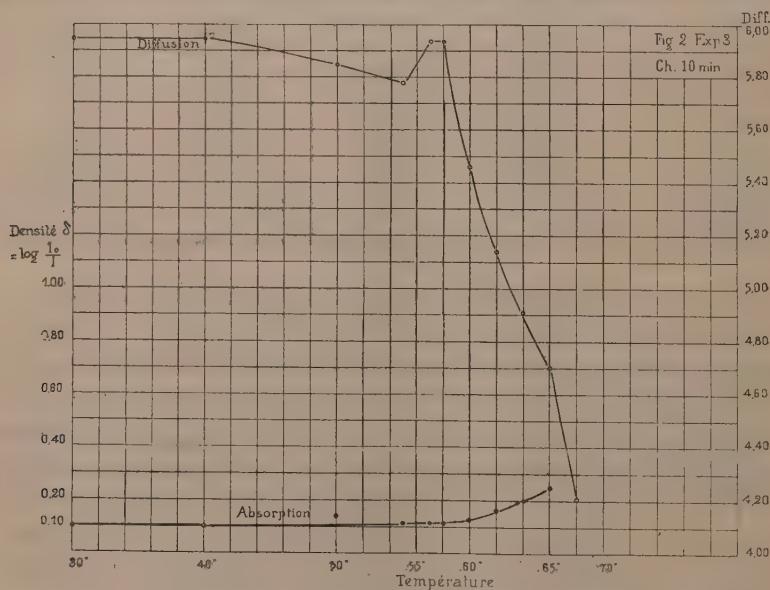
ABSORPTION			DIFFUSION	
Ecran : <i>a</i> Surcharges : O à gauche — A à droite			Ecran : <i>F</i> Surcharges : B à gauche O à droite	
Température en degrés	Lecture	δ	Lecture	D
20	57,5	0,40	120	5,84
40	59,5	0,43 ?	112	5,67 ?
50	57,0	0,09	120	5,84
55	57,0	0,09	121	5,85
57	57,0	0,09	125	5,94
58	57,0	0,09	125	5,94
62	58,0	0,40	100	5,44
64	60,0	0,14	86	5,16
66	63,0	0,49	74	4,94
70	"	"	Coag. 45	4,36

pendant cinq minutes à 9.000 tours. En général il était conservé à la glacière en tubes bouchés jusqu'au lendemain matin. Des expériences faites le jour même de la saignée, c'est-à-dire environ cinq heures après, ont donné des valeurs semblables. Le sérum était ensuite distribué en ampoules de 5 cent. cubes environ, fermées au chalumeau, et porté à la température désirée dans de grandes bouteilles Thermos remplies d'eau, et munies d'un agitateur. La température était maintenue constante par addition d'eau chaude. Les variations au cours d'un chauffage d'une heure, ne dépassaient pas $\pm 0,25^\circ$.

Dans ces conditions, δ et D indiquent les valeurs du rapport $\log \frac{I_0}{I}$ en lumière transmise et en lumière diffusée.

TABLEAU II (EXPÉRIENCE N° 3). — Sérum de cheval normal chauffé pendant dix minutes.

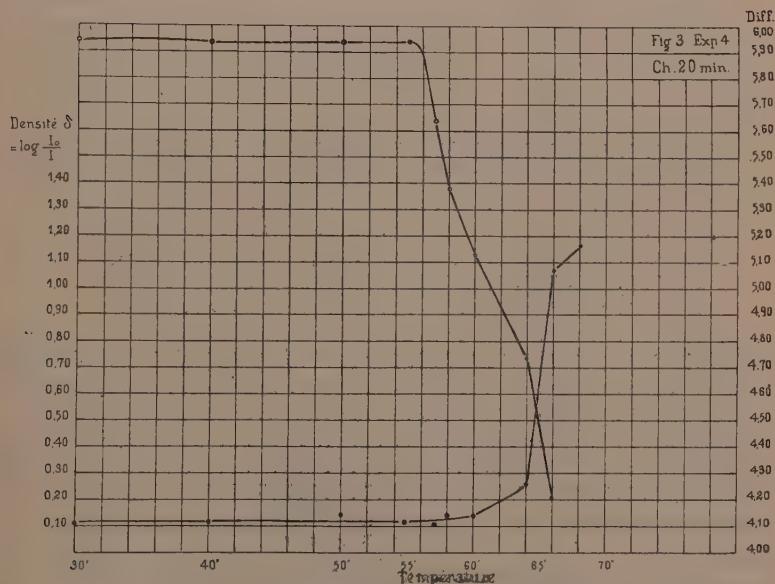
ABSORPTION			DIFFUSION	
Ecran : α Surcharges : O à gauche — A à droite			Ecran : F Surcharges : B à gauche — O à droite	
Température en degrés	Lecture	δ	Lecture	D
Non chauffé (glacière)	57,5	0,10	126	5,95
Non chauffé (chambre)	57,5	0,10	126	5,95
50	60,0	0,14	121	5,85
55	58,5	0,11	119	5,78
57	58,5	0,11	125	5,94
58	58,0	0,10 ?	125 ?	5,94
60	59,5	0,13	101	5,46
62	61,5	0,16	85	5,14
64	63,5	0,20	73	4,91
66	65,0	0,22	62	4,70
68	»	»	Coag, 42	4,21

FIG. 2. — Courbes d'absorption et de diffusion de la lumière.
Sérum normal chauffé pendant dix minutes.

Le tableau n° II donne les résultats obtenus par un chauffage de dix minutes. Les deux premières lignes indiquent les valeurs

TABLEAU III (EXPÉRIENCE N° 4). — Sérum de cheval normal chauffé pendant vingt minutes.

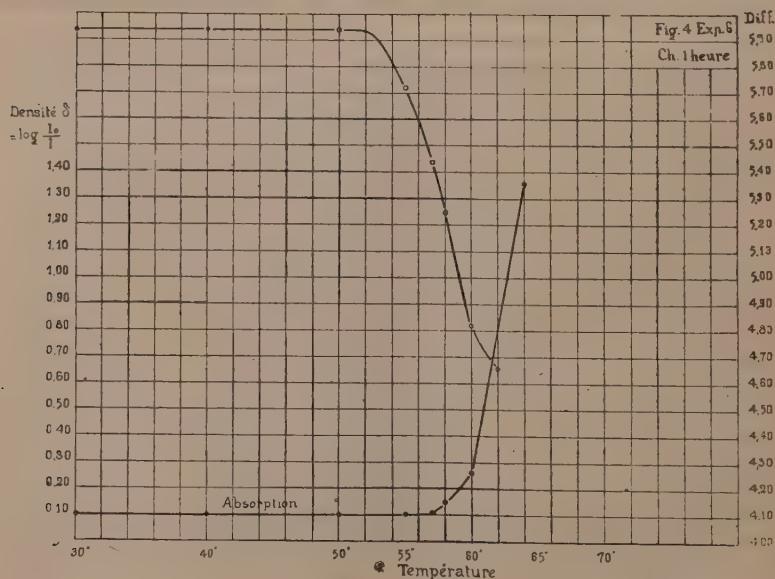
ABSORPTION			DIFFUSION	
Ecran : α Surcharges : O à gauche — A à droite			Ecran : F Surcharges : B à gauche — O à droite	
Température en degrés	Lecture	δ	Lecture	D
20	57,5	0,10	425	5,94
50	60,0	0,14	425	5,94
55	59,0	0,12	425	5,94
57	57,0	0,09	110	5,64
58	60,0	0,14	97	5,33
60	60,0	0,14	84	5,13
64	67,0	0,26	64	4,74
66	Coag. 415,0	1,07	37	4,21
68	120,0	1,16	39	4,25



fournies par le sérum de vingt-quatre heures. On voit que, de même que dans le tableau I, la densité n'augmente qu'après 60°.

TABLEAU IV (EXPÉRIENCE N° 6). — Sérum de cheval normal chauffé pendant une heure.

ABSORPTION			DIFFUSION	
Ecran : α Surcharges : O à gauche — A à droite			Ecran F Surcharges : B à gauche — O à droite	
Température en degrés	Lecture	δ	Lecture	D
20	57,5	0,40	125	5,94
50	57,5	0,10	125	5,94
55	57,5	0,10	114	5,72
57	58,0	0,10	110	5,44
58	60,5	0,15	90	5,25
60	65,5	0,23	68	4,82
62	Coag. 430,0	1,33	60	4,62

FIG. 4. — Courbes d'absorption et de diffusion de la lumière.
Sérum normal chauffé pendant une heure.

On constate un léger accroissement de la lumière diffusée à 50 et 55°, suivi d'une diminution qui est ensuite constante.

L'accroissement préalable ne se produit pas toujours (voir

expérience n° IV, tableau n° III. (Nous rappelons que les chiffres correspondant à l'absorption et à la diffusion varient en sens inverse de la quantité de lumière transmise et diffusée, puisqu'ils expriment les valeurs du rapport $\log \frac{I_0}{I}$.)

Au-dessous de 64°, la densité ne montre que de faibles accroissements sauf pour des chauffages de l'ordre de quarante

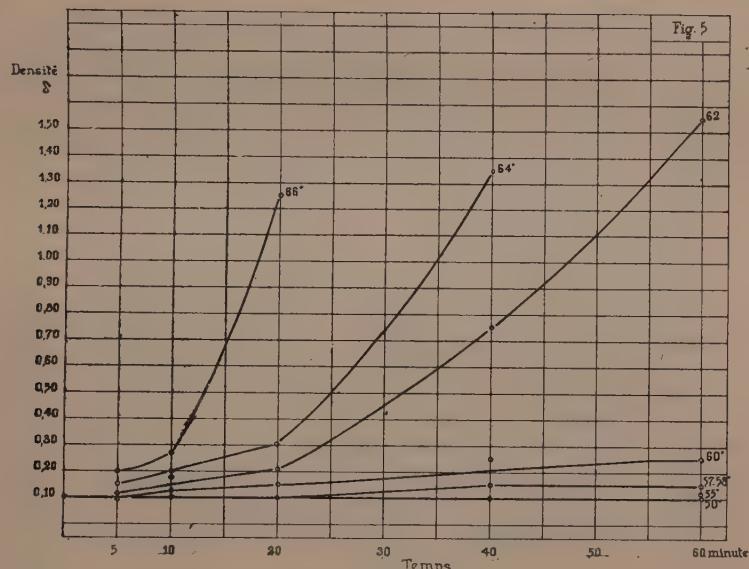


FIG. 5. — Densité optique du sérum de cheval normal, en fonction du temps à différentes températures.

minutes ou une heure. Les courbes mettent bien en évidence la grande sensibilité du phénomène de diffusion.

Les figures 5 et 6, où deux séries d'expérience complètes sont résumées, montrent clairement les différences entre les deux méthodes. Dans le cas de la figure 5 (courbes de densités en fonction de la température) on voit que jusqu'à 60° l'augmentation est assez faible. Mais pour des chauffages prolongés, elle fait un bond considérable au delà de 60°. On pourrait presque se demander si cette différence soudaine ne serait pas due à un phénomène différent de celui qui détermine l'accroissement progressif de la densité. Au contraire, dans le cas de la figure 6 (diffusion), on n'observe pas de pareil saut. Néanmoins

on constate souvent, après coagulation, une accélération dans la courbe représentant la lumière diffusée : la courbe s'infléchit à partir de 66° (fig. 2), de 62° (fig. 3) : cela est probablement dû à l'apparition de structure dans le sérum.

L'aspect des courbes (fig. 1, 2, 3, 4) permet de se rendre bien mieux compte du phénomène. Il est clair que la mesure de la diffusion est une méthode beaucoup plus sensible que la mesure

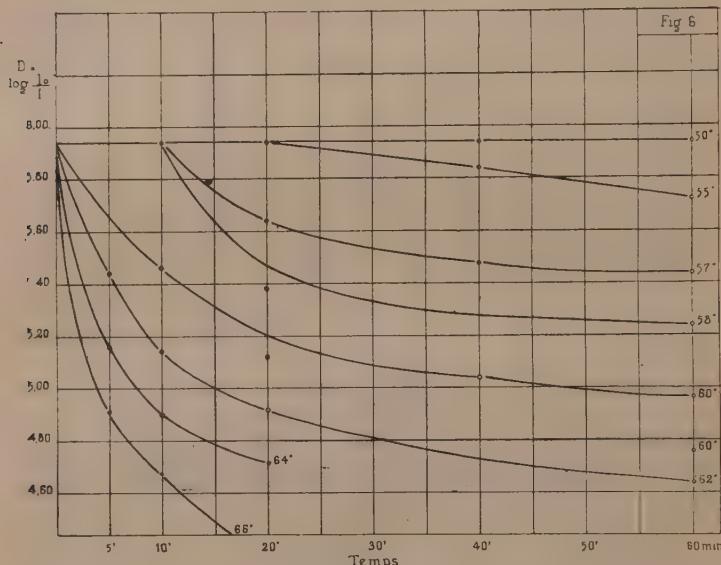


FIG. 6. — Courbes exprimant la quantité de lumière diffusée par le sérum, en fonction du temps à différentes températures.

de la densité pour étudier dans un sérum les modifications subies par les protéines sous l'influence de la chaleur par exemple et de bien d'autres facteurs probablement.

La chute très nette et rapide, après que la température a dépassé 57°, pour cinq et dix minutes de chauffage, est remarquable. En effet, les chiffres étant des logarithmes ne permettent pas de se représenter l'amplitude du phénomène, mais prenons par exemple le tableau III (fig. 3), chauffage de vingt minutes. Nous voyons qu'entre 55° et 57° la quantité de lumière diffusée latéralement a doublé. Entre 55° et 58°, elle a presque quadruplé. Enfin elle est près de seize fois plus grande (15,8 fois) quand le sérum a été maintenu à 64°.

Deux degrés de plus déterminent la coagulation, et la quantité de lumière diffusée monte à près de 54 fois sa valeur pour le même temps de chauffage à 55°. Pour ne prendre que les chiffres extrêmes, la densité entre 55° et 64° n'était devenue que 1,35 fois plus grande. La figure 7, qui permet de comparer les

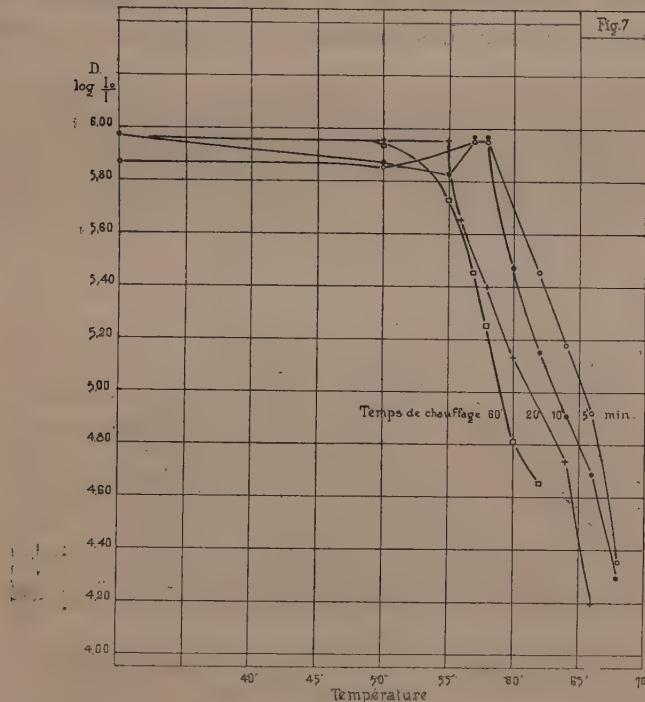


FIG. 7. — Diffusion en fonction de la température pour des temps de chauffage différents.

résultats des expériences précédentes entre eux, montre que le temps de chauffage décale simplement les courbes vers la gauche.

DISCUSSION.

Nous retrouvons donc encore une fois un phénomène indiquant une profonde perturbation du sérum chauffé vers 55-57°. Nous avons établi précédemment (1) que cette perturbation

(1) *Loc. cit.*

physique avait une origine chimique, et nous avons interprété l'accroissement de la viscosité (1) au delà de 58°, comme dû à l'augmentation de volume par hydratation des particules. Nous avons, dans les expériences relatées dans le présent mémoire, une nouvelle preuve de l'augmentation considérable du volume des micelles qui se forment dans le sérum sous l'influence du temps et de la chaleur. Les mesures de viscosité (2) n'avaient

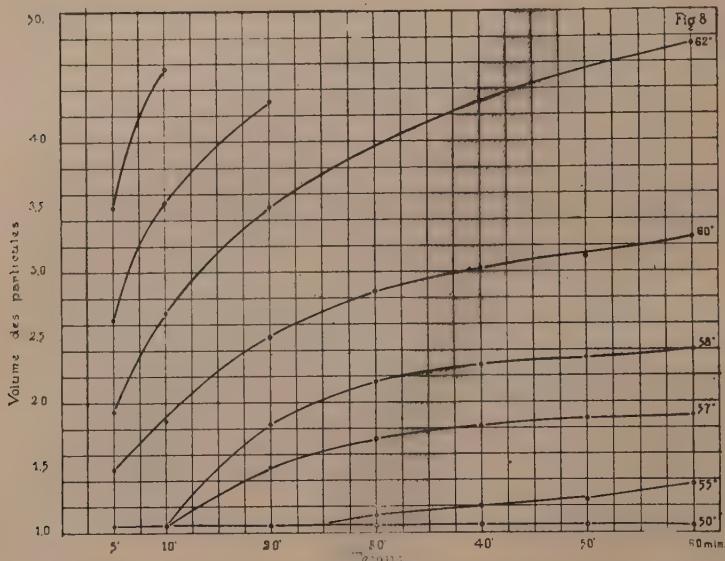


FIG. 8. — Accroissement du volume des particules colloïdales dans le sérum chauffé, en fonction du temps de chauffage.

pas mis le phénomène si nettement en évidence, malgré la sensibilité de la méthode, et ne permettaient pas de se faire une idée de l'augmentation quantitative de la dimension des particules, ce qui devient possible maintenant, en raisonnant de la façon suivante : J. W. Strutt (Lord Rayleigh) a montré dans ses importants travaux sur le phénomène de Tyndall (2) que l'intensité de la lumière diffractée est directement proportionnelle au carré du volume des particules, et inversement proportionnelle à la quatrième puissance de la longueur d'onde,

(1) *Loc. cit.*

(2) J. W. STRUTT, *Phil. Mag.*, 1871, **41**, p. 107, 274, 447; 1881, **42**, p. 81; 1889, **47**, p. 375 et seq.

La formule complète à laquelle il arrive finalement (pour la lumière diffusée à angle droit) est

$$I = \frac{9\pi V^2 A^2}{\lambda^4 x^2} \left(\frac{n^2 - n_1^2}{n_1^2 + 2n^2} \right)^2. \quad (1)$$

Cette formule peut être simplifiée pour les besoins de la cause, lorsque les mesures sont effectuées dans des conditions

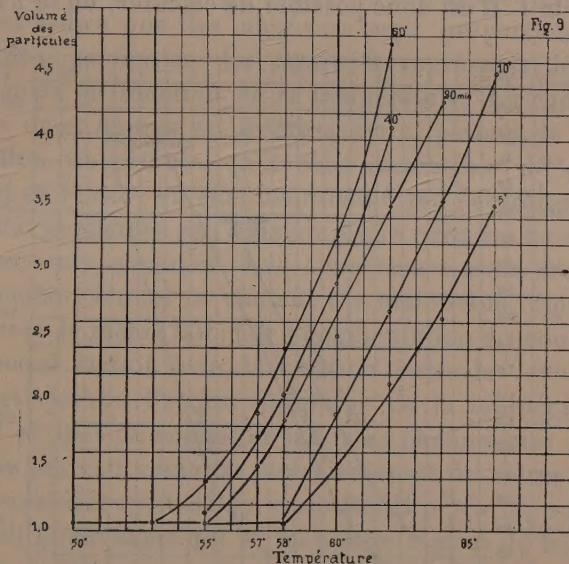


FIG. 9. — Accroissement du volume des particules colloïdales dans le sérum chauffé, en fonction de la température.

bien déterminées et constantes, et l'on arrive à l'équation :

$$I = CV^2 \left(\frac{n^2 - n_1^2}{n_1^2 + 2n^2} \right)^2 \quad (2)$$

où C est une constante, V^2 le carré du volume d'une particule; n et n_1 , les indices de réfraction de la particule et du solvant (1). Or, nous avons montré que l'indice de réfraction du sérum chauffé ne variait pas, ou très peu, pour des chauffages de l'ordre de dix minutes aux environs de 60° . Mais l'indice de la particule doit diminuer au fur et à mesure que le volume aug-

(1) Voir : E. HATSCHÉK et HUMPHREY. *Trans. Faraday Soc.*, 20, part I, (1924) et KRISHNAMURTI. *Proc. Roy. Soc.*, 1929, A, 122, p. 76.

mente (par suite d'hydratation). La quantité de lumière diffusée ne peut augmenter que si le premier terme de l'équation contrebalance le second (entre parenthèses).

Comme on devait s'y attendre, c'est ce qui se passe, et nous pouvons arbitrairement supprimer ce second terme sans introduire de grosses erreurs dans les calculs, étant donné les accroissements relativement énormes que nous observons dans la valeur de I . Il est donc possible de calculer, en se basant sur

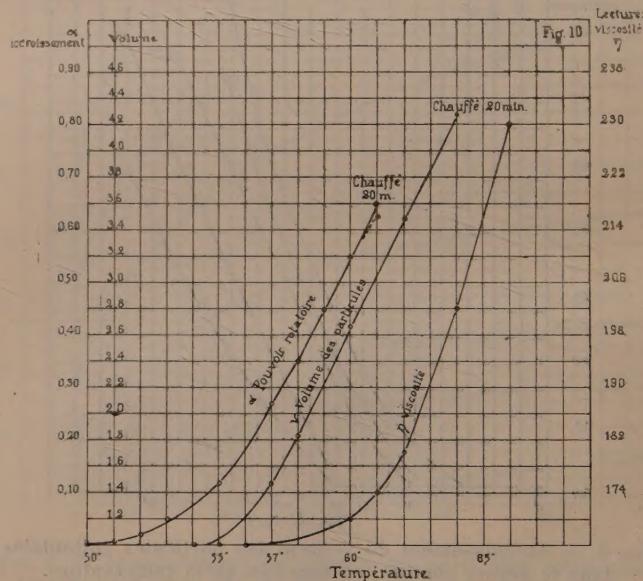


FIG. 10. — Pouvoir rotatoire, volume des particules et viscosité de sérum normal de cheval, en fonction de la température.

l'équation (2) les accroissements du volume des particules en fonction de la température et du temps. En effet, nous savons que les chiffres lus sur l'appareil nous donnent (après calcul des surcharges) $\log \frac{I}{I_0}$. Au lieu de mesurer I en valeur absolue,

nous pouvons soustraire $\log \frac{I_0}{I}$ d'une valeur de $\log I_0$ arbitrairement choisie, ce nous donnera la valeur de $\log I$. En extrayant la racine carrée de la valeur trouvée ou simplement en cherchant la valeur de $\frac{\log I}{2}$ dans la table, nous aurons un chiffre

qui sera proportionnel au volume des particules. La valeur de $\log \frac{I_o}{I}$ pour le sérum non chauffé est voisine de 5,94, et dans ce cas la quantité de lumière diffusée est extrêmement faible (moins 1/1.000.000 de la lumière incidente). Nous pouvons donc prendre 6,00 comme valeur arbitraire [de $\log I_o$], ce qui revient à admettre une valeur de 1.000.000 pour I_o , et de l'ordre de l'unité pour I . La figure 8 représente les résultats des calculs, c'est-à-dire que les abscisses sont proportionnelles au volume des particules. La figure 9 représente] les mêmes valeurs, mais en fonction de la température. La comparaison entre ces deux figures est intéressante et permet de faire une constatation importante, qu'il était impossible de prévoir *a priori* : il en ressort en effet clairement que l'accroissement du volume des particules est, à partir d'une certaine température, *à peu près proportionnel à la température* mais non pas au temps pendant lequel la chaleur est maintenue. Nous avions déjà observé le même fait pour l'augmentation du pouvoir rotatoire, ce qui établit bien la relation entre les deux phénomènes, et montre l'action spécifique de la température. La figure 10 permet de comparer les trois phénomènes : accroissement du pouvoir rotatoire, accroissement du volume des particules, accroissement de la viscosité. Il n'y a là, en somme, qu'un seul phénomène qui se manifeste à nous de trois façons différentes : l'altération structurale (chimique) des molécules, mesurée par le polarimètre, se produit d'abord, naturellement. Elle est suivie par l'agrégation des molécules sous forme de particules qui diffusent la lumière et la diffractent, ce qui permet de suivre leur accroissement en volume; et finalement, cet accroissement devient tel qu'il agit sur la viscosité du sérum, mesurée au viscosimètre. Ainsi que nous l'avons fait remarquer dans nos précédents mémoires, ces phénomènes coïncident avec celui connu sous le nom de destruction du complément, qui n'est probablement que la manifestation biologique de ces perturbations chimiques et physico-chimiques qui se produisent vers 56°.

Le Gérant : G. MASSON.

